



UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO ACARAÚ
PROGRAMA DE MESTRADO EM ZOOTECNIA

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL, FISIOLÓGICA E
HEMATOLÓGICA DE REPRODUTORES CAPRINOS PORTADORES
DO VÍRUS DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA (CAEV) E ANÁLISE
DO TESTE DE *WESTERN BLOTTING* NO PLASMA SEMINAL**

RENATO MESQUITA PEIXOTO

SOBRAL – CE
AGOSTO – 2014

**UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO ACARAÚ
PROGRAMA DE MESTRADO EM ZOOTECNIA**

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL, FISIOLÓGICA E
HEMATOLÓGICA DE REPRODUTORES CAPRINOS PORTADORES
DO VÍRUS DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA (CAEV) E ANÁLISE
DO TESTE DE *WESTERN BLOTTING* NO PLASMA SEMINAL**

RENATO MESQUITA PEIXOTO

**SOBRAL – CE
AGOSTO – 2014**

RENATO MESQUITA PEIXOTO

AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL, FISIOLÓGICA E HEMATOLÓGICA
DE REPRODUTORES CAPRINOS PORTADORES DO VÍRUS DA ARTRITE
ENCEFALITE CAPRINA (CAEV) E ANÁLISE DO TESTE DE *WESTERN*
BLOTTING NO PLASMA SEMINAL

**Dissertação apresentada ao Programa
de Mestrado em Zootecnia, da
Universidade Estadual Vale do
Acará, como requisito parcial para
obtenção do Título de Mestre em
Zootecnia.**

Área de concentração: Reprodução
Animal

ORIENTADORA:
PROF(A). DRA. ALICE ANDRIOLI PINHEIRO
CO-ORIENTADOR
PROF. DR. RAYMUNDO RIZALDO PINHEIRO

**SOBRAL – CE
AGOSTO – 2014**

P43a

Peixoto, Renato Mesquita

Avaliação comportamental, fisiológica e hematológica de reprodutores caprinos portadores do vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) e análise do teste de *Western Blotting* no plasma Seminal / Renato Mesquita Peixoto. -- Sobral, 2014.

52 f.: il.

Orientador: Alice Andrioli Pinheiro

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Vale do Acaraú / Centro de Ciências Agrárias e Biológicas / Mestrado em Zootecnia, 2014.

1. Comportamento. 2. Lentivírus. 3. Técnica sorológica. I. Pinheiro, Alice Andrioli. II. Universidade Estadual Vale do Acaraú, Centro de Ciências Agrárias e Biológicas. IV. Título.

CDD 636.391

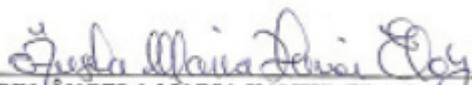
RENATO MESQUITA PEIXOTO

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL, FISIOLÓGICA E
HEMATOLÓGICA DE REPRODUTORES CAPRINOS PORTADORES
DO VÍRUS DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA (CAEV) E ANÁLISE
DO TESTE DE *WESTERN BLOTTING* NO PLASMA SEMINAL**

Dissertação defendida e aprovada em 01/08/2014 pela Comissão Examinadora
constituída por:



Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro
Embrapa Caprinos e Ovinos
(Co-orientador/Examinador)



Dra. Ângela Maria Xavier Eloy
Embrapa Caprinos e Ovinos
(Examinador)



Dra. Alice Andrioli Pinheiro
Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA
Embrapa Caprinos e Ovinos
Presidente

SOBRAL – CE
AGOSTO – 2014

Aos meus pais, Antonia Pinto de Mesquita (Toinha) e Raimundo Nonato Peixoto (Rui), aos quais sou grato, pelo amor, carinho, e apoio em todas as decisões da minha vida, assim como à todos meus familiares e amigos, por acreditarem no meu potencial e credibilidade a mim concedida.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à Deus, que em sua imensa misericórdia, sempre iluminou meus caminhos, me abençoando de forma que fosse capaz de superar todos os obstáculos que apareceram ao longo dessa grande jornada.

Aos meus pais, Antonia e Rui que são minha base e minha fortaleza, os quais eu amo demais, por acreditarem no meu potencial, pelo apoio em todas as minhas decisões e pelo grande amor e carinho que a mim concedem de maneira incondicional.

A todos os meus familiares e parentes que rezam por mim e que se alegram em todas as minhas vitórias, mas que também me consolam em momentos difíceis.

A Dra Alice por ter aceitado me orientar, pela disponibilidade e atenção todas as vezes que adentrava em sua sala e, ainda, por permitir que pudesse desenvolver esse trabalho, possibilitando enriquecer meus conhecimentos e tornando um profissional mais qualificado. A ela também agradeço, pelos conselhos durante os momentos de indecisões, diversas vezes úteis e fundamentais que nortearam meus caminhos.

Ao Dr Rizaldo que sempre esteve disponível e disposto a ajudar quando a ele recorri.

Aos meus amigos e companheiros de mestrado, os quais muitos estão comigo desde a graduação, Diego Sousa, Jefferson Ferreira, Lídia Miranda, Mikael Mota, e Lívian Freitas, pelo convívio ao longo das disciplinas e por confiarem em minha capacidade.

Ao meu amigo e muito “paciente” Vanderlan pelos conselhos, momentos de alegrias, broncas e por ter me repassado um pouco de seu conhecimento me ensinando a técnica de *Western Blotting*.

Aos meus amigos e colegas da Embrapa Caprinos e Ovinos que compartilharam comigo momentos difíceis, mas que ao mesmo tempo compartilharam e propuseram inúmeras situações de alegria, descontração, almoço coletivo e conversas “científicas”. Principalmente a Ana Lídia, Carol Araújo, Dalva Azevedo, Juscilânia Furtado (Laninha), Danilo, Ruth Brandão, Jessica Santos, Kelma Costa, Carla, Thiago, Rosivaldo Jr e Elizângela.

Aos bolsistas de iniciação científica que acompanharam e contribuíram com a realização desse trabalho diretamente: Ana Dalila, Edgar Marques, Layris Melo e Nykaelison Batista.

Aos funcionários e laboratoristas da Embrapa Caprinos e Ovinos pelo auxílio e ajuda ao longo do desenvolvimento desse projeto, em especial, Nóbrega, Osmarilda, João Ricardo, Jamile, Adriano, Orlando e Alex.

A secretária da coordenação do Programa de Pós-Graduação do Mestrado Acadêmico em Zootecnia, Joyce Sampaio, que com seu jeito alegre e contagiante sempre se encontrava disposta a resolver qualquer tipo de problema acadêmico e burocrático que viesse a existir.

A todos os professores que até hoje passaram ao longo dessa minha vida acadêmica, deixando um pouco de sua sabedoria.

A Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA) pela oportunidade de realização do Mestrado Acadêmico em Zootecnia.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Caprinos e Ovinos, pela permissão em utilizar de toda a condição técnica e estrutural que se fazia necessária para se desenvolver essa pesquisa.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pela concessão da bolsa de mestrado indispensável durante esses dois anos de estudo.

MUITO OBRIGADO A TODOS!!!!

*“Dificuldades preparam pessoas comuns para destinos
extraordinários”.*

C.S. Lewis

SUMÁRIO

	PÁGINA
LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE FIGURAS	XI
LISTA DE GRÁFICOS.....	XII
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	XIII
RESUMO GERAL	XIV
GENERAL ABSTRACT	XVI
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO	20
1. Caprinocultura.....	21
2. Artrite Encefalite Caprina.....	22
2.1 Etiologia.....	22
2.2 Epidemiologia.....	24
2.3 Transmissão.....	25
2.4 Sinais Clínicos.....	26
2.5 Controle e Diagnóstico.....	27
2.5.1 <i>Western Blotting</i>	29
3. Sêmen	31
4. Bem-Estar Animal e Etologia.....	33
5. Ambiência	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
CAPÍTULO 2 - PARÂMETROS FISIOLÓGICOS, HEMATOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE REPRODUTORES CAPRINOS COM INFECÇÃO RECENTE E CRÔNICA PARA O VÍRUS DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA (CAEV)	51
RESUMO	52
ABSTRACT	53
INTRODUÇÃO.....	54
MATERIAL E MÉTODOS.....	56
Período e Local.....	56
Animais Experimentais.....	56
Inoculação Viral.....	57
Avaliação do Comportamento Sexual.....	57
Coleta de Sangue.....	58
Exame Clínico e Parâmetros Fisiológicos.....	58
Parâmetros Ambientais.....	58
Análise dos Dados	59
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
CONCLUSÕES.....	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE <i>WESTERN BLOTTING</i> (WB) NO PLASMA SEMINAL DE REPRODUTORES CAPRINOS PORTADORES DO VÍRUS DA ARTRITE ENCEFALITECAPRINA(CAEV).....	77
RESUMO	78

ABSTRACT	79
INTRODUÇÃO	80
MATERIAL E MÉTODOS	82
Período e Local.....	82
Animais Experimentais.....	82
Inoculação Viral.....	83
Coleta e Avaliação do Sêmen.....	83
Coleta de Sangue.....	84
Western Blottin.....	84
Análise dos Dados.....	85
RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
CONCLUSÕES	98
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
CONSIDERAÇÕES FINAIS	103

LISTA DE TABELAS

PÁGINA

CAPÍTULO 2

1.	Dados de temperatura e umidade da baia dos reprodutores com infecção recente para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) nos diferentes períodos do dia.....	60
2.	Dados de temperatura e umidade da ala dos reprodutores com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) nos diferentes períodos do dia.....	62
3.	Média dos parâmetros fisiológicos de reprodutores caprinos pré-infecção e com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV), nos meses de julho a setembro, em Sobral, CE.....	62
4.	Parâmetros fisiológicos de reprodutores caprinos com infecção recente e reprodutores com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV), nos meses de setembro de 2013 a março de 2014, em Sobral, CE.....	65
5.	Parâmetros hematológicos de reprodutores caprinos pré-infecção e com infecção crônica para o Vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV), nos meses de julho a setembro, em Sobral, CE.....	67
6.	Parâmetros hematológicos de reprodutores caprinos com infecção recente e com infecção crônica para o Vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) nos meses de setembro de 2013 a março de 2014, em Sobral, CE.....	68
7.	Características comportamentais de reprodutores caprinos pré-infecção e infecção crônica para o Vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) nos meses de julho a setembro, em Sobral – CE.....	68
8.	Características comportamentais de reprodutores caprinos com infecção recente e com infecção crônica para o Vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) nos meses de setembro de 2013 a março de 2014, em Sobral –CE.....	69
9.	Interesse pela fêmea de reprodutores caprinos com infecção recente e com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) nos meses de setembro de 2013 a março de 2014, em Sobral – CE.....	70
10.	Dados de temperatura e umidade da sala de coleta de sêmen ao longo dos meses considerando apenas os dias e o horário (8hs00 as 10hs00) de avaliação comportamental e de coleta de sêmen.....	70

CAPÍTULO 3

1. Espermograma de reprodutores caprinos pré-infecção e com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV), observados de julho a setembro de 2013, em Sobral, CE.....	87
2. Espermograma de reprodutores caprinos com infecção recente e com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV), observados entre setembro de 2013 a março de 2014, em Sobral, CE.....	88
3. Resultados do WB de diferentes coletas semanais de amostras de soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).....	90
4. Resultados do WB de diferentes coletas semanais de amostras de soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção recente para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).....	91
5. Comparação da técnica de <i>Western Blotting</i> no soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção recente e com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).....	94
6. Quantidade média de amostras onde foram detectados anticorpos anti-CAEV pela técnica de <i>Western Blotting</i> em amostras de soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção recente e com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina.....	95
7. Correlação entre a detecção de anticorpos anti-CAEV via <i>Western Blotting</i> das amostras biológicas do grupo de reprodutores com infecção recente e adultos com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).....	95
8. Comparação dos resultados do WB no soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção crônica e recente para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).....	96

LISTA DE FIGURAS

	PÁGINA
CAPÍTULO 1	
1. Estrutura das partículas virais do CAEV.....	23
2. Estrutura Genômica do CAEV.....	23
3. Valores de IAC de caprinos segundo o tipo racial, faixa etária e sexo considerados normais, sujeitos e portadores de problemas articulares.....	28
4. Esquema para exibição do comportamento animal.....	34
5. Comportamento sexual do macho caprino.....	36
6. Zona de termoneutralidade.....	38
CAPÍTULO 2	
1. Modelo de <i>Data Logger</i> utilizado na mensuração da temperatura e umidade nos diferentes ambientes.....	59

LISTA DE GRÁFICOS

	PÁGINA
CAPÍTULO 3	
1. Porcentagem de detecção de anticorpos em amostras de soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina.....	91
2. Porcentagem de detecção de anticorpos em amostras de soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção recente para o vírus da Artrite Encefalite Caprina.....	93
3. Quantidade de amostras em cada coleta detectadas anticorpos anti-CAEV via <i>Western Blotting</i> em amostras de soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção crônica e recente para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).....	96

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
A	Ampéres
Ac	Anticorpos
Ag	Antígeno
Anti-CAEV	Anticorpo Anti-Vírus da Artrite-Encefalite Caprina
bat./mun	Batimentos por Minuto
CAE	Artrite Encefalite Caprina
CAEV	Vírus da Artrite-Encefalite Caprina
CHGM	Concentração de Hemoglobina Globular Médio
DAB	Diaminobenzidine
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECP	Cipionato de Estradiol
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EETs	Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
env	Gene que codifica as proteínas do envelope viral
FC	Frequência Cardíaca
FR	Frequência Respiratória
G	Força centrífuga
g/animal	Gramas por animal
g/dL	Gramas por decilitro
gag	Gene viral que codifica as proteínas interna dos vírus
gp	Glicoproteína
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HIV	Vírus da Imunodeficiência Adquirida
IAC	Índice Articular Clínico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDGA	Imunodifusão em Gel de Agarose
IF	Interesse pela Fêmea
IgA	Imunoglobulinas do Tipo A
IgG	Imunoglobulinas do tipo G
IgM	Imunoglobulinas do Tipo M
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
LVA	Leishimaniose Visceral Americana
LVPR	Lentivírus de Pequenos Ruminantes
MEM	Meio Essencial Mínimo
MIP	Motilidade Individual Progressiva
MI	Mililitros
mov./min	Movimentos por Minuto

MSC	Membrana Sinovial Caprina
Nm	Nanômetro
°C	Graus Celsius
OC	Ocorrência de Cortejo
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
P	Proteína
p<0,05	Probabilidade menor que 5%
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PCRn	Nested –PCR
Pg	Picograma
Ph	Ponto Hisoelétrico
<i>pol</i>	Gene que codifica as enzimas virais
QM	Quantidade de Montas
<i>rev</i>	Gene de regulação viral
RNA	Ácido ribonucleico
SDS-PAGE	Dodecil-Sulfato de Sódio e Poliacrilamida
SE	Sistem Endócrino
Seg	Segundos
SN	Sistema Nervoso
<i>tat</i>	Gene de regulação viral
TCI	Temperatura Crítica Inferior
TCID₅₀	Dose infectante de 50% da cultura de células
TCS	Temperatura Crítica Superior
TR	Temperatura Retal
TRç	Tempo de Reação
TS	Temperatura Superficial da pele
V	Volts
VGM	Volume Globular Médio
<i>vif</i>	Gene de regulação viral
W	Watts
WB	<i>Western Blotting</i>
G	Força gravitacional
MI	Microlitros
χ^2	Qui-quadrado

RESUMO GERAL

O intuito deste trabalho foi verificar se o vírus da Artrite Encefalite Caprina interfere nos parâmetros clínicos, fisiológicos e hematológicos de reprodutores caprinos com infecção recente ou crônica e também analisar a técnica sorológica de *Western Blotting* em amostras de plasma seminal na detecção de anticorpos anti-CAEV em comparação às amostras de soro sanguíneos. Foram utilizados 12 reprodutores caprinos de diferentes raças, em bom estado de saúde de acordo com exame clínico geral realizado, os quais foram mantidos durante todo o período experimental (270 dias) em regime intensivo de produção. Os machos tinham de três a quatro anos de idade, e foram selecionados com base no quadro sorológico para o CAEV, sendo seis soropositivos (com infecção natural crônica há mais de 12 meses) e seis soronegativos, obtidos após três testes consecutivos de *Western Blotting* (WB) e de *Nested-PCR* (nPCR) no sangue, com intervalo de 30 dias. Os animais foram divididos inicialmente em dois grupos: o grupo de machos com infecção crônica e o grupo de macho pré-infecção. Após 90 dias do início do experimento, os seis machos pré-infecção foram inoculados com a cepa viral CAEV-Cork, título $10^{5,6}$ TCID₅₀/mL, por via intravenosa. A partir da inoculação viral o grupo pré-infecção passou a ser denominado de grupo de reprodutores com infecção recente e foram acompanhados semanalmente por testes de WB no soro sanguíneo e plasma seminal. Todos os animais inoculados com o CAEV-Cork, soroconverteram após a terceira semana. Os reprodutores de ambos os grupos apresentaram parâmetros fisiológicos e hematológicos dentro dos padrões de normalidade para espécie. Quanto aos parâmetros de comportamento sexual, foi observado que os animais não apresentaram receio à presença do homem em sala de coleta e que a maioria realizou o comportamento de cortejo da fêmea. O tempo de reação não diferiu ($p>0,05$) entre os grupos e está dentro dos parâmetros normais para a espécie. Entre os animais dos grupos de reprodutores pré-infecção e com infecção crônica para o CAEV que tiveram seu sêmen submetido à avaliação *in vitro*, através de espermograma, não houve diferença estatística ($p>0,05$) para os parâmetros de concentração, motilidade e vigor, com exceção apenas do volume do grupo pré-infecção, situação que permaneceu após a realização da infecção. Além disso, estes parâmetros estiveram dentro dos padrões recomendados pelo CBRA (2013). Assim, pode-se concluir que o CAEV não interferiu nos parâmetros fisiológicos e hematológicos de reprodutores caprinos, independente do tempo de infecção do CAEV, mantendo os parâmetros avaliados dentro dos padrões de referência para a espécie. Em adição, a CAE não altera o padrão de comportamento sexual, porém quando os animais apresentam artrite há um quadro de dor e desconforto, afetando o comportamento sexual e comprometendo o bem-estar do reprodutor. Observamos que animais com infecção recente apresentam maior porcentagem de resultados positivos no *Western Blotting*, tanto no plasma seminal como no soro sanguíneo, do que os animais com infecção crônica, consolidando a importância do diagnóstico precoce do CAEV. Já o diagnóstico de WB em amostras de soro sanguíneo é mais eficiente do que de plasma seminal, independente do tempo de infecção. No entanto, é uma alternativa válida de diagnóstico do CAEV.

Palavras – chave: caprino, comportamento, lentivírus, técnica sorológica.

OVERVIEW

The aim of this work was to verify if the Caprine Arthritis Encephalitis virus interferes with the clinical, physiological and hematological parameters for breeding with recent or chronic infection and also examine, the technique of Western Blotting in samples of seminal plasma in the detection of anti-CAEV in compared to samples of blood serum. 12 breeding goats of different breeds were used, in good health according to general clinical examination, which were maintained throughout the experimental period (270 days) in intensive system of production. Males of three to four years of age, and were selected based on serological framework for CAEV, six seropositive (chronic natural infection for more than 12 months) and six seronegative obtained after three consecutive tests Western Blotting (WB) and Nested-PCR (nPCR) in the blood, with an interval of 30 days. The animals were divided initially into two groups: the group of males with chronic infection and the group of pre-infection male. 90 days after the beginning of the experiment, six male pre-infection were inoculated with the viral strain CAEV-Cork title TCID₅₀/mL 10^{5.6} intravenously. From the viral inoculation pre-infection group came to be named the group of breeding animals with recent infection and were monitored weekly for WB testing in blood serum and seminal plasma. All animals inoculated with CAEV-Cork, seroconverted after the third week. Breeders of both groups showed physiological and hematological parameters within normal limits for the species. Regarding the parameters of sexual behavior, it was observed that the animals showed no fear to the man in the collection room and realized that the majority held the courtship behavior of the female. The reaction time did not differ ($p > 0.05$) between groups and is within normal parameters for the species. Among the animals in groups of breeding pre-infection and chronic infection for CAEV which had their semen submitted to in vitro evaluation through semen analysis showed no statistical difference ($p > 0.05$) for the parameters of concentration, motility and force, with the exception only of the volume of pre-infection group, a situation that remained after the completion of the infection. Furthermore, these parameters were within recommended by CBRA (2013) standards. Thus, we can conclude that the CAEV did not interfere with physiological and hematological parameters of breeding, regardless of time of CAEV infection by keeping the parameters evaluated in the reference standards for the species. In addition, the CAE does not alter the pattern of sexual behavior, but when they show arthritis there is a picture of pain and discomfort, affecting sexual behavior and compromising the welfare of the breeder. We observed that animals with recent infection have a higher percentage of positive results in Western Blotting, both in seminal plasma and blood serum than animals with chronic infection, strengthening the importance of early diagnosis of CAEV. Since the diagnosis of WB in blood serum samples is more efficient than seminal plasma, regardless of the time of infection. However, it is a valid alternative for the diagnosis of CAEV.

Keywords: goat, behavior, lentivirus, serological technique.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Para o desenvolvimento do Brasil, e em especial da região Nordeste, a caprinocultura apresenta um grande potencial, devido às características adaptativas dos caprinos ao semiárido nordestino, ao perfil socioeconômico dos produtores brasileiros e por ser uma atividade tradicionalmente desenvolvida nas regiões mais pobres, com atributos de base familiar realizada por pequenos produtores, já que 68% do efetivo caprino brasileiro se encontram em propriedades de até 100 hectares. (CARNIELLO, 2014).

No entanto, observam-se no cenário nacional perdas econômicas decorrentes do acometimento dos animais por doenças, fruto de um manejo sanitário inadequado, em grande parte dos estabelecimentos produtivos. Dentre as principais enfermidades que atinge a caprinocultura está a Artrite Encefalite Caprina (CAE) que vem sobressaindo-se perante as demais. A CAE é uma doença de caráter degenerativo e de curso progressivo lento e debilitante que atinge animais de diferentes raças, idade e sexo, (PUGH, 2004). As perdas econômicas decorrentes a CAE é de difícil quantificação, em virtude de ser uma doença crônica que reduz gradualmente a longevidade e a produtividade do animal infectado (SIQUEIRA FILHO, 2014).

A manifestação da CAE em matrizes, e, principalmente, em reprodutores maximiza os problemas econômicos e sanitários, pois é recomendado que os animais portadores sejam sacrificados, pois o vírus vai estar presente em todas as secreções orgânicas produzidas pelo animal, como no sêmen (SOUZA et al., 2013). Nessa situação o reprodutor passa a ser uma fonte de infecção importante dentro de um rebanho, podendo estar disseminando o vírus mesmo antes de ser identificado como portador pelos métodos de diagnóstico usuais e até os mais sensíveis como o *Western Blotting* (WB) (PAULA et al., 2008). Uma alternativa para minimizar o prejuízo da CAE é o desenvolvimento de biotécnicas reprodutivas, com a finalidade de obtenção e preservação de sêmen e gametas livres do vírus de animais superiores geneticamente, de modo que possa os mesmos permanecer no rebanho, mas sem, contudo, acarretar elevação da enfermidade (SILVA & LIMA, 2007).

Aliado às biotécnicas reprodutivas o desenvolvimento e aprimoramento de técnicas de diagnóstico da CAE como os métodos sorológicos, de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), o ELISA e o *Western Blotting* (WB) (DIAS et al., 2012) são

importantes para o controle da CAE, visto a possibilidade de identificação dos animais portadores e do monitoramento do estado sanitário dos animais em reprodução.

Dentre os testes sorológicos o WB é o mais sensível e eficaz na detecção precoce da presença de anticorpos contra o vírus na corrente sanguínea dos animais acometidos (PINHEIRO, 2001), porém pouco se sabe sobre a presença destes anticorpos no plasma seminal e se o WB seria um teste possível e eficaz para esse tipo de amostra, o que permitiria o diagnóstico do reprodutor mesmo quando só dispuséssemos de seu sêmen.

No entanto, a permanência de um animal enfermo no rebanho representa, além de um risco sanitário, um grande problema de ordem ética e de bem-estar animal, desta forma a manutenção de um reprodutor portador do vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) para reprodução segura, através das biotécnicas, só será aceitável quando não houver sintomas clínicos da doença ou quando estas não influenciarem no seu bem-estar. As avaliações fisiológicas, reprodutivas e comportamentais dos animais podem ser parâmetros importantes na avaliação do bem-estar animal. Assim, com base nessas questões, o trabalho objetivou verificar se o vírus da Artrite Encefalite Caprina interfere nos parâmetros clínicos, fisiológicos e hematológicos de reprodutores com infecção recente e crônica e também analisar a técnica sorológica de *Western Blotting* em amostras de plasma seminal na detecção de anticorpos anti-CAEV em comparação às amostras de soro sanguíneo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARNIELLO, M. **A caprinocultura e o desenvolvimento do Semiárido: uma proposta para a UFCG.** Disponível em: <http://www.cdsa.ufcg.edu.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=889:a-caprinocultura-e-o-desenvolvimento-do-semiarido-uma-proposta-para-a-ufcg&catid=92:artigos&Itemid=460>. Acessado em 14/06/2014.
- DIAS, R.P.; BRITO, R.L.L.; RODRIGUES, A.S.; et al. Influência da soropositividade ao vírus da Artrite Encefalite Caprina no hemograma de cabras em lactação. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.79, n.4, p.503-509, 2012.
- PAULA, N.R.O.; ANDRIOLI, A.; CARDOSO, J.F.S.; et al. Parâmetros clínicos e hematológicos de reprodutores caprinos infectados naturalmente pelo vírus da Artrite Encefalite Caprina durante a transição da estação seca para chuvosa no Ceará. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.75, n.2, p.141-147, 2008.
- PINHEIRO, R.R. **Vírus de Artrite Encefalite Caprina: Desenvolvimento padronização de ensaios imunoenzimáticos (ELISA e Dot-Blot) e estudo epidemiológico no Estado do Ceará.** 2001. 115 Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.
- PUGH, D.C. **Clínica de ovinos e caprinos.** 1ed. São Paulo: Roca, 2004. 513p.
- SIQUEIRA FILHO, E. **Doença: Artrite Encefalite Caprina.** Disponível em: <http://www.accoba.com.br/ap_info_dc.asp?idInfo=2299>. Acessado em 14/06/2014.
- SILVA, J.B.A.; LIMA, P.M. Lentivírus de Pequenos Ruminantes: caracterização etiológica, infectividade, controle, prevenção e diagnóstico. **Acta Veterinária Brasilica**, v.1, n.4, p.111-117, 2007.
- SOUZA, K.C.; PINHEIRO, R.R.; SANTOS, D.O.; et al. Transmission of the caprine arthritis-encephalitis virus through artificial insemination. **Small Ruminant Research**, v.109, p.193-198, 2013.

CAPÍTULO 1

REFERENCIAL TEÓRICO

1. CAPRINOCULTURA

A caprinocultura tem se destacado no setor produtivo nos últimos tempos, tanto a nível mundial quanto nacional, pois se trata de uma atividade em plena expansão que vem sendo praticada em todo o Brasil, e principalmente no Nordeste brasileiro, onde o potencial da vegetação natural para a manutenção e sobrevivência dos animais desta espécie, aliado ao fato que tanto machos quanto fêmeas não apresentam estacionalidade reprodutiva, não sendo o fotoperíodo fator limitante para sua reprodução, torna-se algo atraente e estimulante (EMBRAPA, 2014). Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) denotam que o efetivo do rebanho caprino brasileiro é de aproximadamente 9,45 milhões de cabeças, e que 91,3 % do rebanho nacional encontra-se situado exatamente na região Nordeste, fato esse que torna perceptível a importância socioeconômica que a exploração de caprinos exerce nesta região. (IBGE, 2007).

A caprinocultura brasileira caracteriza-se por apresentar em algumas regiões segmentos, tais como o sistema de criação e de comercialização em estágios mais avançados (GONÇALVES et al., 2008), enquanto em outras as condições de criação e de desempenho do rebanho são ditas como díspares, principalmente quanto aos estágios tecnológico e gerenciais (SILVA, 1998). Por isso, depara-se atualmente com a realização dessa atividade em sua imensa maioria ainda sendo feita por pequenos produtores uma vez que 68% dos rebanhos são criados em propriedades com até 100 hectares. Em virtude das características de adaptação dos caprinos ao semiárido nordestino e do perfil socioeconômico dos produtores brasileiros a atividade caprina no Nordeste ainda é um empreendimento de base familiar, o que fortalece o caráter social da atividade na região. Assim, o fato de ser uma atividade historicamente desenvolvida no Nordeste, geralmente considerada como sendo a região mais pobre do país, tem feito com que a caprinocultura seja vista como uma ferramenta estratégica por meio da qual conseguiria o pleno desenvolvimento do Nordeste brasileiro (CARNIELLO, 2014).

No entanto, a ocorrência de fatores como sistema de criação, problemas nutricionais, de manejo e sanitários, que ocorrem nessa região causam um enorme prejuízo, limitando a produção e ao mesmo tempo a produtividades dos animais, que ficam impossibilitados de demonstrar seu total potencial produtivo, reduzindo assim os lucros e desestimulando os produtores (LIMA, 2010).

Dentro desse contexto as doenças infecciosas, como por exemplo, a Artrite Encefalite Caprina (CAE), comumente são causadoras de vários problemas e ponto crítico que impossibilita maior lucratividade dentro de um sistema de exploração caprina. Assim, os cuidados com a sanidade dos animais torna-se algo fundamental quando se visa eliminar ou pelo menos minimizar os efeitos danosos que a referida doença representa ao acometer em um rebanho, onde compromete o desempenho produtivo e reprodutivo dos animais, acarretando perdas econômicas consideráveis.

Além disso, o fato da CAE ser uma doença crônica dificulta a avaliação dos danos, embora se saiba que é uma doença causadora de perdas econômicas diretas, com diminuição da produção leiteira, duração do período de lactação e redução da vida produtiva e eficiência reprodutiva (BIRGEL JUNIOR et al., 2007; BRITO, 2009). Já as perdas indiretas são, em geral, representadas pela desvalorização do rebanho, altas taxas de reposição precoce dos animais doentes, despesas com medidas de controle, sanções aos produtos, entre outros (PINHEIRO et al., 2003).

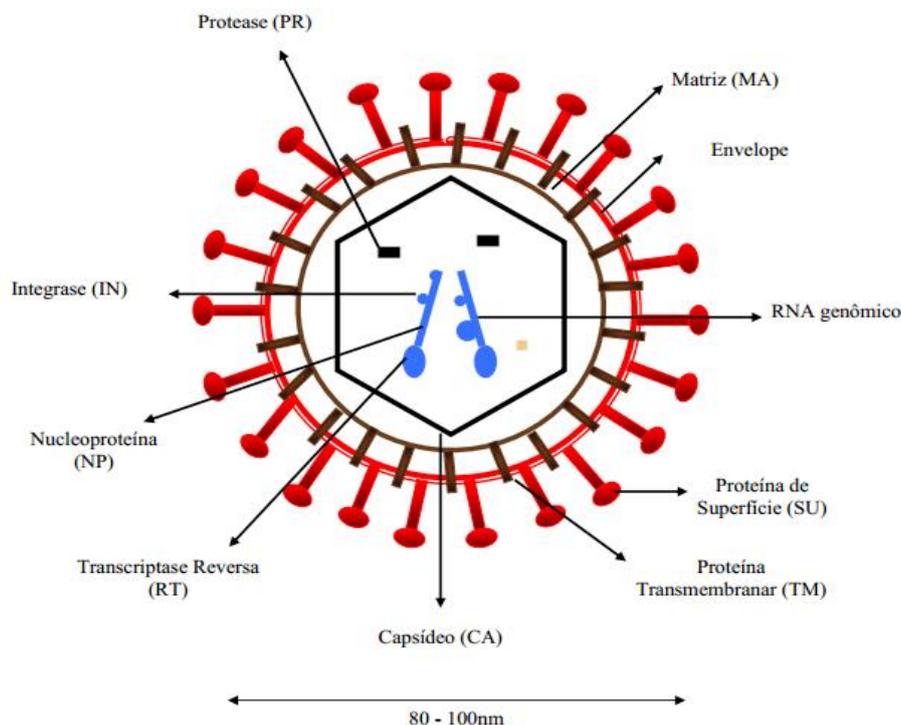
2. ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA (CAE)

2.1 Etiologia

A Artrite Encefalite Caprina (CAE) é uma enfermidade multissistêmica de caráter crônico, infeccioso e progressivo, que ocasiona infecção em caprinos nas diversas fases de crescimento e desenvolvimento etário, independente de sexo, raça e produção (LARA et al., 2005). A ocorrência da doença é determinada pela infecção do vírus da artrite encefalite caprina (CAEV), que pertence ao gênero *Lentivirus*, Família *Retroviridae*, Subfamília *Orthoretrovirinae* (ICTV, 2008).

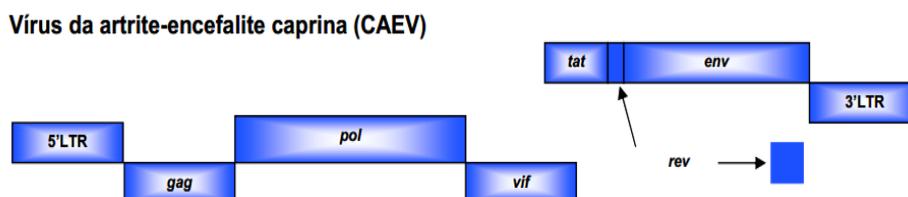
O CAEV apresenta como principais características o fato de ser um vírus envelopado com simetria de capsídeo icosaédrica de modo não complementar com genoma tipo RNA linear de duas fitas simples de sentido positivo, com tamanho aproximado de 80 – 100 nm (Figura 1) (BRELLOU et. al., 2007).

Figura 1 – Estrutura das partículas virais do CAEV (Adaptado de COFFIN, 1996).



Os principais genes contidos no genoma são representados pelo: gene *gag* (antígeno grupo-específico) que possibilita a codificação das proteínas estruturais localizadas internamente; gene *pol* (polimerase) que codifica as enzimas transcriptase, tanto a reversa quanto a integrase; e o gene *env*, que por sua vez exerce a função de codificar as glicoproteínas-transmembrana e as superficiais do envelope. Além desses, existem também os genes que se responsabilizam pelo gerenciamento da expressão genoma viral, sendo eles *tat*, *rev* e *vif*. No vírus ainda ocorre a existência de uma importante glicoproteína em seu envelope, a gp135, e ainda a p28 no capsídeo, que induzem a produção de anticorpos nos animais infectados (Figura 2) (QUINN et. al., 2005; LIMA, 2012).

Figura 2 – Estrutura genômica do CAEV (CLEMENTES & PAYNE, 1994).



Quando ocorre a contaminação de um animal por um lentivírus há um intervalo de tempo entre a infecção e a soroconversão, sendo que em alguns animais esse período pode ser de semanas, entretanto em outros pode ser de meses ou até mesmo anos, havendo ainda a possibilidade da sororeversão (HANSON et al., 1996). No entanto, de forma geral, em torno da terceira semana após infecção já se detecta algum tipo de resposta imune relacionada contra a proteína do capsídeo (p25 ou p28) (HOUWERS & NAUTA, 1989) e a produção de anticorpos de outras proteínas em torno da quinta semana (DE LA CONCHA-BERMEJILLO et al., 1995), sendo as imunoglobulinas da classe G (IgG) do tipo 1 e 2 as que comumente são produzidas pelo organismo do animal infectado (OLIVEIRA, 2007).

O CAEV tem tropismo pelas células do sistema monócito-fagocitário, sendo os macrófagos preferencialmente infectados, o que possibilita sua disseminação pelo organismo animal (LARA et al., 2005; BLACKLAWS, 2012), sendo que sua replicação pode ocorrer de forma restrita, propiciando que o vírus permaneça latente nos monócitos dos hospedeiros sem ser detectado pelo sistema imune (PUGH, 2004; PAULA et al., 2008b). O CAEV apresenta similaridade com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), assim como também com outros vírus causadores de imunodeficiência (QUINN et al., 2005; AL-QUDAH, 2006). A presença do CAEV no organismo do hospedeiro, proporcionará que os seus linfócitos T auxiliares tenham sua função comprometida (ZINK et al., 1990; SANCHES et al., 2012), causando redução ou alteração na produção de citocinas ou no seu perfil, e posteriormente prejuízos, tanto a nível de resposta imune celular ou humoral no combate ao vírus (FLURI et al., 2006).

2.2 Epidemiologia

O primeiro isolamento do vírus causador da CAE foi evidenciado por Crawford et al. (1980), oriundo da membrana sinovial e do líquido cefalorraquidiano de um bode com 8 anos de idade, onde o mesmo apresentava manifestações clínicas evidentes de artrite crônica (LARA, 2006).

A Artrite Encefalite Caprina é uma doença persistente, incurável e de enorme prevalência em rebanhos leiteiros nacionais acarretando diversas perdas econômicas e prejuízos aos produtores (ANDRIOLI et al., 2006). Essa enfermidade predomina em maior escala na maioria dos países onde a caprinocultura assume o posto de uma

importante atividade econômica, geradora de emprego e renda (CAVALCANTE et al., 2013).

No Brasil, o primeiro relato que se teve com relação à doença ocorreu no estado do Rio Grande do Sul por Moojen et al. (1986), e após esse primeira evidência a mesma foi também evidenciada em outros estados brasileiros, como por exemplo: Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Minas Gerais (YORINORI et al., 2003), Pará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro e São Paulo (ASSIS & GOUVEIA, 1994; GOUVEIA, 2003).

2.3 Transmissão

A transmissão da Artrite Encefalite Caprina pode ocorrer de forma vertical e horizontal, sendo que o principal reservatório e fonte de infecção são representados pelos próprios caprinos infectados juntamente com seus fluidos orgânicos (SOUZA, 2010).

Transmissão Vertical

A transmissão por via transplacentária ou uterina, embora ainda não comprovada, pode ocorrer, pois diversos trabalhos já comprovaram a existência do vírus em sua forma livre em ovócitos e no fluido uterino de animais infectados (ANDRIOLI, 2001, BLACKLAWS et al., 2004, CAVALCANTE et al., 2013).

Além disso, há relatos da infecção *in vitro* de células da granulosa dos folículos dos ovários, fato esse potencialmente perigoso em procedimentos *in vitro* de fertilização e transferência de embriões (LAMARA et al., 2001; LAMARA et al., 2002) e da presença de DNA pró-viral do CAEV no útero e nas trompas uterinas de fêmeas inseminadas com sêmen contaminado (AL AHMAD et al., 2012a).

Transmissão Horizontal

Segundo BlackLaws et al., (2004) essa maneira de transmissão pode se dar diretamente logo após o parto, por meio da ingestão de colostro e/ou leite de fêmeas infectadas. Além disso, os mesmos autores relatam que a convivência de animais sadios com animais infectados possibilita a disseminação do vírus e conseqüentemente a infecção de um número maior de animais, uma vez que o contato dos indivíduos sadios com secreções orgânicas (saliva, secreção respiratória e urogenital) dos animais infectados proporcionará que os mesmos venham a ser acometidos pelo CAEV.

Mas a transmissão também pode ocorrer de forma indireta através de fômites contaminados, pois representa uma importante via de transmissão da doença dentro de uma propriedade, tendo em vista a utilização de objetos perfuro-cortantes em determinadas atividades de manejo, onde qualquer erro acaba por disseminar a doença dentro de um plantel (GOUVEIA et al., 1998; BLACKLAWS et al., 2004). Em amostras ambientais normalmente os lentivírus de pequenos ruminantes são encontrados em sua forma pró-viral, porém isso não limita sua capacidade de infecção, e consequentemente de contaminação dos animais da propriedade (McNEILLY et al., 2008; VILLORIA et al., 2013).

Além das vias de transmissão, tem se apontado que a via sexual também exerce importante contribuição na disseminação da enfermidade dentro de um rebanho, tendo em vista que já se detectou a presença de DNA pró-viral do CAEV no sêmen, glândulas acessórias e em tecidos genitais de animais, tanto animais infectados experimentalmente quanto naturalmente (TRAVASSOS et al., 1999; ANDRIOLI et al., 1999; AL AHMAD et al., 2008; PETERSON et al., 2008), bem como a transmissão via inseminação artificial usando sêmen infectado (AL AHMAD et al., 2012a; SOUZA et al., 2013), vindo a representar um risco considerável na propagação do CAEV (CORTEZ-ROMERO et al., 2013).

Assim, é evidente a presença e o potencial infeccioso de vários patógenos que estão presentes não só no sêmen de pequenos ruminantes, mas também em células prepucciais e em especial no plasma seminal, com transmissão potencial ou comprovada, onde dentre esses estão presentes os lentivírus que infectam caprinos (ANDRIOLI et al., 1999; TRAVASSOS et al., 1999), o que acarreta perdas substanciais na produção principalmente quando se trata de reprodutores de alto potencial genético.

Quando ocorre a introdução do CAEV em um determinado rebanho alguns fatores são bastante variáveis, tais como a incidência de animais soropositivos e acometidos clinicamente, bem como a intensidade das alterações, porém isso irá depender do grau de estresse, qualidade da nutrição e das condições higiênico-sanitárias disponibilizadas aos animais (MODOLO et al., 2003).

2.4 Sinais Clínicos

Os animais adultos acometidos pela CAE geralmente apresentam artrite progressiva crônica, pneumonia e mastite, enquanto que nos animais jovens, de dois a

quatro anos, pode ocorrer, de maneira rara, leucoencefalomielite (CRAWFORD & ADAMS, 1981). Além disso, ocorre emagrecimento progressivo, perda de peso e artrite caracterizada pelo aumento de volume das articulações, principalmente do carpo que podem ser uni ou bilaterais, (NOGUEIRA et al., 2009) e em situações mais severas, ocorre perda de movimento e decúbito.

No entanto, há relatos que comprovam que o animal portador do vírus pode permanecer por um longo período sem apresentar nenhuma sintomatologia clínica e manter a sua fertilidade e libido no mesmo nível de animais normais da mesma raça e idade (ANDRIOLI et al., 2002).

2.5 Controle e diagnóstico

O controle da doença é difícil tendo em vista a falta de uma vacina eficaz e a abrangência desta enfermidade em rebanhos de excelente qualidade zootécnica e de alto valor genético e econômico (GREGORY et al., 2011). Como muitos dos animais portadores podem se apresentar assintomáticos, a realização de diagnósticos para detectar e isolar os animais portadores da CAE passa a ser o mais importante meio de controle de disseminação da doença no rebanho.

O diagnóstico dos animais portadores do CAEV deve ser feita por exames laboratoriais (NOGUEIRA et al., 2009), pois o intervalo entre a infecção e o aparecimento de sintomatologia pode levar anos. Além do mais, raramente se detecta a CAE antes dos dois anos de idade (ANDRÉS et al., 2005).

Prática simples, porém eficiente é a mensuração das medidas carpo-metacarpianas, as quais servem de base na determinação do índice articular clínico (IAC), cujo valor é dado quando se subtrai a menor medida obtida das circunferências à altura dos ossos metacarpianos da maior medida encontrada das circunferências carpianas. Na figura 3 estão apresentados os valores de IAC de caprinos segundo Pinheiro et al., (2005) considerando diferentes critérios. O referido procedimento é de grande valia na detecção e triagem de animais com potenciais problemas articulares (PINHEIRO et al., 2005).

Figura 3 – Valores de IAC de caprinos segundo o tipo racial, faixa etária e sexo considerados normais, sujeitos e portadores de problemas articulares (PINHEIRO et al., 2005).

Tipo racial	Idade (ano)	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Normal até (cm)	IAC	
							Suspeito entre (cm)	Problema articular acima (cm)
PURO Leiteiro	0,5 – 1,0	Fêmea	100	5,0	0,57	5,6	5,7 a 6,1	6,1
	1,0 – 2,0	Fêmea	164	5,4	0,53	5,9	6,0 a 6,5	6,5
	2,0 – 3,0	Fêmea	97	5,4	0,53	5,9	6,0 a 6,5	6,5
	acima de 3,0	Fêmea	164	5,6	0,55	6,2	6,3 a 6,7	6,7
MESTIÇO	0,5 – 1,0	Fêmea	333	4,8	0,51	5,3	5,4 a 5,8	5,8
	1,0 – 2,0	Fêmea	442	5,1	0,51	5,6	5,7 a 6,1	6,1
	2,0 – 3,0	Fêmea	440	5,2	0,52	5,7	5,8 a 6,2	6,2
	acima de 3,0	Fêmea	728	5,3	0,50	5,8	5,9 a 6,3	6,3
SRD/Nativo	0,5 – 1,0	Fêmea	136	4,7	0,55	5,3	5,4 a 5,8	5,8
	1,0 – 2,0	Fêmea	240	5,0	0,46	5,5	5,6 a 5,9	5,9
	2,0 – 3,0	Fêmea	144	5,1	0,51	5,6	5,7 a 6,2	6,2
	acima de 3,0	Fêmea	230	5,2	0,47	5,7	5,8 a 6,1	6,1
PURO Leiteiro	0,5 – 1,0	Macho	446	5,4	0,50	5,9	6,0 a 6,4	6,4
	1,0 – 2,0	Macho	22	5,9	0,56	6,4	6,5 a 7,0	7,0
	2,0 – 3,0	Macho	22	5,6	0,63	6,2	6,3 a 6,8	6,8
	acima de 3,0	Macho	24	6,2	0,38	6,6	6,7 a 7,0	7,0
MESTIÇO	0,5 – 1,0	Macho	176	5,1	0,56	5,7	5,8 a 6,2	6,2
	1,0 – 2,0	Macho	57	5,6	0,51	6,1	6,2 a 6,6	6,6
	2,0 – 3,0	Macho	25	5,8	0,63	6,4	6,5 a 7,1	7,1
	acima de 3,0	Macho	29	5,7	0,54	6,2	6,3 a 6,8	6,8
SRD/Nativo	0,5 – 1,0	Macho	74	5,1	0,55	5,7	5,8 a 6,2	6,2
	1,0 – 2,0	Macho	45	5,4	0,56	6,0	6,1 a 6,5	6,5
	2,0 – 3,0	Macho	8	5,7	0,59	6,3	6,4 a 6,9	6,9
	acima de 3,0	Macho	8	6,1	0,32	6,4	6,5 a 6,7	6,7

Mas para o diagnóstico da CAE se faz necessário à realização de ensaios laboratoriais que confirmem a ocorrência da enfermidade e acometimento dos animais de uma propriedade. Dentro desse contexto, os testes sorológicos se sobressaem perante aos demais por conta de serem práticos e apresentarem custo menor em comparação a outros métodos laboratoriais (PINHEIRO et al., 2006). Os principais testes sorológicos preconizados pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) no diagnóstico da CAE, é o teste de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) devido ser um método de fácil aplicabilidade e que não demanda o uso de equipamentos demasiadamente sofisticados, o que facilita a sua utilização (OIE, 2004), bem como o Ensaio Imunoenzimático (ELISA).

Entretanto, além do IDGA e do ELISA existem outros métodos de melhor eficácia que podem ser empregados, como por exemplo, o *Western Blotting* (WB). Segundo Silva (2005) sempre que se tiver que escolher por um teste de diagnóstico de uma

doença, deve-se levar em consideração duas características primordiais: a sensibilidade e especificidade do teste.

2.5.1 Western Blotting (WB)

Segundo Pinheiro (2001), o *Western Blotting* (WB) dentre os testes sorológicos tem apresentado resultados mais eficazes, exercendo correta detecção de animais positivos (especificidade) e ainda com capacidade de detecção precoce de anticorpos contra o vírus em animais acometidos pela doença, e com possibilidades reduzidas de ocorrência de resultados falso-negativos (boa sensibilidade) ao ser comparado com o teste preconizado pela OIE, o IDGA, o qual é viável na realização de uma triagem, porém ineficaz quando se pretende erradicar a CAE do plantel (SOUZA, 2010).

Na literatura, já se tem provas concretas que caracteriza o WB como uma técnica de alta sensibilidade e especificidade, em relação aos demais testes sorológicos (PINHEIRO, 2001; RODRIGUES et al., 2009; ABREU et al., 2011; MIGUEL et al., 2012; SOUSA, 2013). Com essa técnica, tornou-se possível diagnosticar uma vasta lista de doenças infecciosas com capacidade de infecção tanto em animais como também em seres humanos, incluindo desde o diagnóstico de encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs) acarretadas por príons, passando pelo diagnóstico da leishmaniose visceral americana (LVA) e infecções micoplasmáticas, até chegar as lentiviroses de pequenos ruminantes, como a CAE, onde o WB, demonstra uma enorme potencialidade em seu diagnóstico (ZANONI et al., 1989; THOMGIZ et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2008; MIGUEL et al., 2012).

O WB permite o fornecimento de uma resolução em caráter simultâneo de vários antígenos imunogênicos presentes em uma amostra, sendo que essa característica é que lhe atribui confiabilidade, já que isso o diferencia dos demais métodos imunoquímicos, o credenciando como uma técnica valiosa, e de ampla aplicabilidade (KURIEN & SCOFIELD, 2006). Essa técnica nasceu a partir do momento em que se detectou a carência de algo que permitisse a determinação do grau de especificidade do antígeno dos anti-soros. Assim, o *Western Blotting* permite a elaboração de réplicas protéicas, previamente separadas por eletroforese em géis de poliacrilamida, seguida de transferência para uma membrana de nitrocelulose (MACPHEE, 2010).

Inúmeras vantagens são atribuídas a esta técnica tais como: potencial de obtenção de cópias diversas a partir de um mesmo gel; facilidade de manuseio das membranas

úmidas; acessibilidade das proteínas existentes na membrana de modo uniforme a diferentes ligantes; necessidade de reduzidas quantidades de reagentes; os padrões a serem transferidos permite ser armazenados por um longo período; e uma mesma transferência de proteínas possibilita várias aplicações, permitindo ser usado em diversas análises sucessivas (KURIEN & SCOFIELD, 2006; MIGUEL et al., 2012).

Comumente e rotineiramente o material utilizado nos testes sorológicos, seja para diagnóstico da CAE ou de qualquer outra enfermidade, é o soro sanguíneo, obtido a partir da centrifugação do sangue coletado do animal suspeito, podendo este material ser armazenado desde que seja congelado e devendo ser enviado ao laboratório em caixa de isopor contendo gelo, mantido a temperatura entre 2 a 8 °C (SILVA, 2005). No entanto, em virtude da presença do CAEV no sêmen de animais portadores do vírus mesmo em situação de ausência de sintomatologia (PAULA, 2008a), a análise do WB utilizando amostras do plasma seminal expande o potencial do método de diagnóstico.

Na literatura o primeiro trabalho que se tem relatos sobre a utilização de WB em amostras de plasma seminal foi o de Rodríguez et al., (2005) quando avaliaram o efeito do CAEV no sistema reprodutor de machos caprinos, nesse estudo evidenciaram que a detecção de anticorpos no fluido seminal via WB já exercia enorme possibilidade de detectar reprodutores com potencial de transmissão da doença, sendo de grande valia principalmente em situações de importação de sêmen, onde não se tem como realizar a avaliação direta do animal. Com base nessas primeiras evidências Ramírez et al., (2009) procuraram realizar o diagnóstico de lentivirose com base na detecção de anticorpos no fluido seminal de pequenos ruminantes e concluíram que o plasma seminal pode ser usado com segurança para detectar infecções causadas por lentivírus como o CAEV, tendo em vista que epidemiologicamente os anticorpos presentes nesse tipo de amostra biológica fornece de forma precoce informações úteis sobre o estado de infecção do animal, principalmente quando se utiliza para o diagnóstico técnicas sensíveis e específicas como o WB. Desse modo, Abreu et al., (2011) na tentativa de padronização de um protocolo de WB no plasma seminal de machos caprinos infectados, comprovou e detectou a presença de anticorpos anti- CAEV, confirmando e reafirmando que o plasma seminal pode ser utilizado para o diagnóstico da CAE por WB assim como o soro sanguíneo, vindo a ser essencial na seleção de reprodutores, no controle sanitário do rebanho.

3. SÊMEN

A constituição do sêmen é feita de plasma seminal e espermatozoides, e entre as diferentes espécies animais denotam-se variações em relação a sua composição. O plasma seminal pode ser definido como uma mistura de fluidos originadas dos testículos, epidídimos, canal deferente, além das glândulas acessórias, em especial a vesícula seminal. Normalmente é isotônico e neutro, onde se encontra substâncias como: frutose, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido glutâmico, inositol, sódio, potássio, cálcio, fosfolipídios, prostaglandinas, bem como proteínas, e exerce função protetora e nutricional aos espermatozoides, os quais são células bastante especializadas, constituídas por cabeça (com seu núcleo e capuchão acrossômico) e cauda (peça intermediária, principal e terminal) (MAIA, 2010). E cabeça e cauda são unidas pelo colo, uma porção estreita, bastante sujeita a ruptura (AISEN & VENTURINO, 2008). Na produção do plasma seminal as glândulas acessórias desempenham importante papel, pois em conjunto elas produzem secreções que contribuem para a formação deste, mas cada uma com sua função específica, como por exemplo, a próstata é responsável por neutralizar o plasma seminal, de modo a propiciar um ambiente bioquímico adequado à sobrevivência dos espermatozoides, as glândulas bulbouretrais por secretar antes da ejaculação um líquido mucoso e proteico, além de lubrificar tanto a uretra como a vagina, e as vesículas seminais responsável por produzir secreção gelatinosa, rica em frutose, que serve como fonte de energia para os espermatozoides ejaculados, sendo atributo ainda desta secretar a maior parte do líquido seminal (DELGADILLO, 2008).

Diversas provas são utilizadas na avaliação seminal, porém são similares diferindo somente no nível de especificidade, relacionado à fisiologia e morfologia espermática, e ao grau de correlação com a fertilidade *in vitro* e *in vivo*. Além disso, outros fatores que devem ser levados em consideração e que caracterizam um melhor ensaio de avaliação seminal é o fato de ter objetividade, permitir ser usado outras vezes, apresentar resultados fiéis e custo acessível (AISEN & VENTIURINO, 2008).

Na seleção de um reprodutor é usual e necessário avaliar seu estado reprodutivo e determinar se é passível de ser empregado em estação de monta ou de ter seu sêmen processado e utilizado em inseminação artificial e/ou fertilização *in vitro* (FIV) (RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, 2006, 2007). A avaliação dos animais é feita por meio de exames clínicos andrológicos e provas laboratoriais, como a realização de um espermograma por meio de parâmetros macroscópicos (cor, aspecto, odor e volume) e

microscópicos (concentração, motilidade individual progressiva (MIP), morfologia espermática e vigor), sendo estes exames de grande valor por avaliar a funcionalidade testicular e epididimal, fornecendo ainda índices de qualidade, viabilidade e fertilidade espermática. Estes exames, permitem eliminar casos de infertilidade, ou até mesmo de subfertilidade (PAULA et al., 2008b) devido a diferentes causas e quiçá induzidas pelo CAEV.

Por isso, bastante atenção deve ser denotada na aquisição e introdução de um reprodutor em um rebanho, principalmente no que se refere a sua situação para com a CAE, pois mesmo ele sendo negativo ao IDGA, método tradicional de detecção da enfermidade, que com frequência não identifica todos os animais infectados, propiciando a ocorrência de falso negativo, exerce potencial relevante para contaminar todo o rebanho, através de secreções e até mesmo via reprodutiva. Turchetti et al., (2013) em experimentos sobre a distribuição do CAEV no trato reprodutivo de caprinos infectados, concluíram que a transmissão sexual da CAE pode ocorrer tanto por inseminação artificial como por cobrição natural, reforçando os resultados de Al Ahmad et al., (2012b) e Souza et al., (2013) que demonstraram a possibilidade de contaminação do útero de fêmeas submetidas a monta natural ou inseminação artificial com sêmen de reprodutores infectados. Turchetti et al., (2013) ainda comprovaram a presença do DNA pró-viral do CAEV, assim como de RNA viral e antígenos virais acometendo e multiplicando-se por todo o trato reprodutivo masculino, fato que indica a capacidade de ocorrência de transmissão venérea do CAEV. Diante desta situação a identificação precoce do reprodutor portador do CAEV é vital para o controle desta lentivirose, já comprovada sua presença no sêmen, principalmente no plasma seminal (ANDRIOLI et al., 1999; TRAVASSOS et al., 1999), vindo este constituinte do ejaculado ser um material passível de ser submetido a testes sorológicos mais específicos e sensíveis como o *Western Blotting*, permitindo um diagnóstico precoce da doença, assim como seleção de animais e partidas de sêmen livres de patógenos. Por isso e outros aspectos é essencial fazer uso de técnicas laboratoriais que propicie a detecção de reprodutores livres do vírus, de forma a não restringir a utilização de seu sêmen, além de evitar a utilização de sêmen de animal contaminado e acabar por prejudicar todo um rebanho.

Segundo Vergara & Barroso (2014) em estudos sobre transmissão de lentivírus em humanos relataram a existência de muitos fatores que exerce interferência na probabilidade de transmissão sexual do HIV, os quais os autores dividem em fatores

que alteram a infecção do indivíduo transmissor e aqueles que alteram a susceptibilidade do indivíduo sujeito a exposição. Em caprinos, há ainda pouco conhecimento sobre tais fatores, porém o que se conhece é que um fator que limita o diagnóstico precoce e conhecimento melhor da transmissão do CAEV no sêmen, e evidentemente no plasma seminal, é a intermitência do vírus, o qual apresenta seu DNA pró-viral no ejaculado animal ocorrendo de forma instável e de maneira inconstante (ANDRIOLI et al., 2006; PETERSON et al., 2008; PAULA et al., 2009). Além disso, nada mais se conhece de forma precisa sobre outros fatores que exercem poder de interferência da ocorrência dos lentivírus no sêmen caprino.

Relatos de Andrioli et al., (2006) afirmaram que danos testicular, possibilitando injúrias em animais infectados exercem enorme influência na presença dos lentivírus no ejaculado de reprodutores, devido a preferência do vírus pelo sistema monócito-fagocitário (NASH et al., 1995), que induziria uma evolução do conteúdo viral no sêmen, deixando a amostra do ejaculado sujeita a ser detectada por métodos moleculares mais específicos.

4. BEM-ESTAR ANIMAL E ETOLOGIA

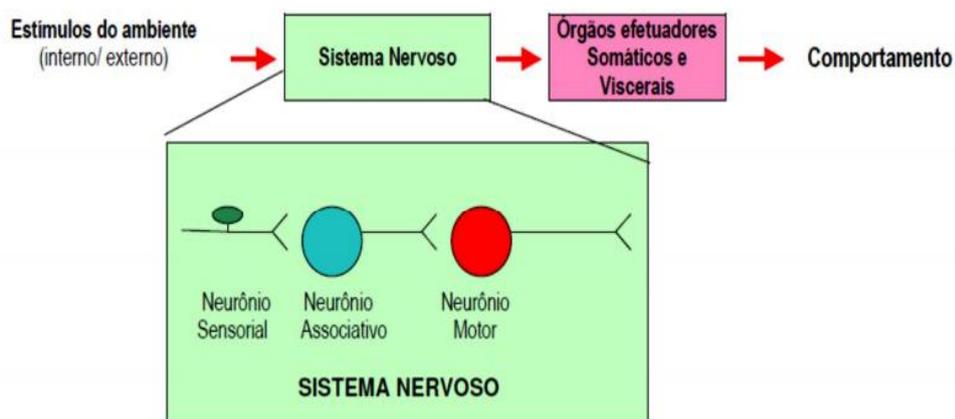
Segundo Broom (1991) bem-estar animal pode ser definido como uma característica natural, inerente ao animal, permitindo este interagir e viver bem em um dado ambiente, e não uma condição dada apenas pelo homem. O animal estará em bem-estar quando naquele ambiente onde ele está inserido vier a se apresentar saudável, confortável, alimentado adequadamente, protegido, ausente de dor, medo ou aflição, para que assim seja capaz de expressar seu comportamento natural (PINHEIRO & BRITO, 2009).

Inserido nesse contexto entra a etologia, disciplina dedicada ao estudo do comportamento animal, originada a partir da Zoologia, com influências darwiniana, norteando o comportamento do indivíduo em seu grupo racial, por intermédio de normas, princípios, preceitos, costumes e valores (PINHEIRO & BRITO, 2009; GONÇALVES & ANDRADE, 2012).

O comportamento compreende um vasto conjunto de atividades, com alto grau de complexidade em sua ampla maioria, podendo existir uma resposta específica individual a estímulos ou modificações fisiológicas, bem como uma interação de dois ou mais indivíduos, contendo uma reação a cada ação do outro. Generalizando, infere-se que a

comunicação dos estímulos ambientais, quer interno e/ou externo, com o sistema nervoso no nível de órgãos somáticos e viscerais, são pré-requisitos para exibição do comportamento (Figura 4) (PER JENSEN, 2002).

Figura 4 – Esquema para exibição do comportamento animal (Adaptado de PER JENSEN, 2002).



Juntamente com o sistema nervoso (SN), o sistema endócrino (SE) também exerce influência sobre a expressão do comportamento. A função de produzir mediadores químicos designados ao sistema endócrino faz com que por intermédio da corrente sanguínea os hormônios endócrinos cheguem a locais específicos no organismo animal e regule sua função (VITALIANO, 2011).

Embasado nessa lógica, desenvolver e estabelecer pesquisas na área de comportamento animal passa a ser necessário ao se visar uma produtividade, pois devido a manejos e/ou práticas impróprias, aplicadas em horários inadequados, muitas vezes o animal tem suas necessidades suprimidas, sem se encontrar em uma situação de bem-estar (GONÇALVES & ANDRADE, 2012).

No Brasil, com ênfase no Nordeste brasileiro, tal situação é verificada rotineiramente, onde os sistemas de produção ainda deixam a desejar em diversos fatores, inclusive no modo de manejar os animais. Além disso, nesses estabelecimentos de produção o uso inadequado de biotécnicas reprodutivas, resulta muitas vezes em baixo desempenho reprodutivo, que é dentre os processos biológicos o que apresenta maior susceptibilidade aos efeitos do comprometimento do bem-estar animal. Verifica-se ainda uma enorme dificuldade ao tentar identificar até que ponto ela é comprometida,

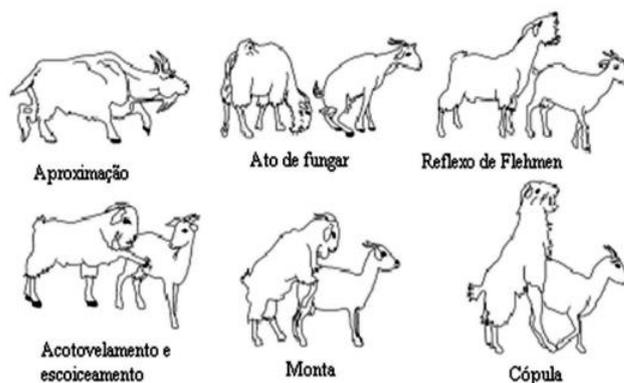
já que é um efeito sutil que resulta de forma geral em problemas de subfertilidade, ou quando em situações mais graves de infertilidade (COSTA E SILVA et al., 2010).

Segundo Garcia (2006), a reprodução é a atividade biológica essencial para qualquer espécie animal, já que através dela é que se dará origem os indivíduos representantes da próxima geração, responsáveis pela perpetuação de determinada espécie no meio que está inserida. Desse modo, seguir os princípios que norteiam o bem estar animal (livres de fome, sede, medo e dor e livres para expressar seu comportamento natural) seria uma forma de intensificar a reprodução na caprinocultura, aumentando a eficiência reprodutiva desses animais que, no Nordeste brasileiro tem a vantagem de serem poliétricos contínuos. Deve-se ressaltar que as dificuldades existentes no processo reprodutivo não são compostas apenas por problemas crônicos e óbvios, mas também por agressões simples ao bem-estar animal (SORENSEN & FRASER, 2010).

Na avaliação do bem-estar animal os critérios devem ser bem definidos, e confiabilidade, repetibilidade, fácil execução, e potencial em analisar aspectos distintos, são características que deverão estar atreladas aos mesmos (SORENSEN & FRASER, 2010). Em geral, a avaliação se baseia em três pontos: indicadores de bem-estar animal que avaliam o animal por si; critérios com foco no ambiente destinado ao animal; e critérios relativos à interação homem-animal (FRASER et al., 2009).

No caso de machos caprinos a análise do bem-estar pode ser observada também pelo comportamento sexual (Figura 5), e nesse caso à libido, ou seja, o interesse de monta por parte do macho na fêmea em estro, e a capacidade de serviço definida como a habilidade do macho não só em montar como também efetuar a cópula (AZEVEDO et al., 2008). Mas outros parâmetros etológicos podem ser incluídos, pois o conhecimento deles aliado aos princípios de bem-estar animal poderá contribuir para elevar a eficiência reprodutiva e servir como ferramenta útil no ato de seleção de reprodutores (FONSECA et al., 2010).

Figura 5 – Comportamento sexual do macho caprino (Adaptado de FABRE-NYS, 2000)



Portanto, o desenvolvimento da ciência animal nos últimos tempos evoluiu de maneira extraordinária, proporcionando que a ciência do bem-estar animal tenha se configurado como um campo multidisciplinar compreendendo uma amplitude de combinações (FRASER et al., 2009). Mas o grau de interferência no bem-estar animal de enfermidades que frequentemente acometem os rebanhos, como por exemplo, a CAE, ainda é desconhecida em sua grande maioria, assim como até que ponto limita o potencial reprodutivo de machos caprinos portadores do vírus da CAE.

5. AMBIÊNCIA

No sucesso de um empreendimento produtivo fornecer um ambiente que possibilite ao animal expressar o seu máximo potencial produtivo e reprodutivo, é algo indiscutível, onde o conhecimento da ambiência propicia a fornecer à esses uma situação de bem-estar. De maneira ampla, ambiência pode ser definida como um espaço em que o meio físico, e concomitantemente a característica do ambiente em si, fazem parte de sua constituição estabelecendo um ambiente apto para os animais, nele inserido, desenvolverem suas atividades (PARANHOS DA COSTA, 2000).

Embasado nisso, denota-se que os elementos relacionados ao clima exercem efeito nos animais, devido condicioná-los a necessidade de termorregulação e restrição do consumo voluntário, fatores que causam interferências negativas no desempenho animal (BROUCEK et al., 2009). Nos animais de interesse zootécnico, adaptar-se a um determinado ambiente não significa apenas uma alternativa de sobrevivência, mas sim produção e reprodução compatível com o seu potencial genético e produtividade esperada nos estabelecimentos produtivos (FAÇANHA et al., 2013). A maioria desses

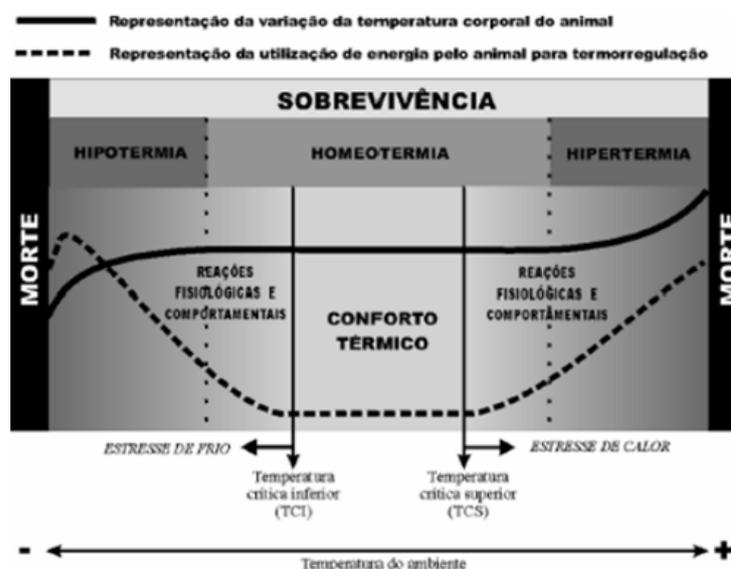
animais de produção são homeotérmicos, isto é, com capacidade de manutenção da temperatura corporal dentro de limites fisiológicos aceitáveis mesmo sobre situações de instabilidade climática (SILVA, 2008).

A homeostase é a permanência do equilíbrio orgânico em meio a variações nas condições ambientais, e a homeostase térmica é a homeotermia, ou seja, é justamente a qualidade presente nos animais homeotermos, nos quais a forma como se regula a interação do meio externo com o interno é mantida pelo sistema nervoso que integra os diferentes sistemas e aparelhos orgânicos. Os mecanismos bioquímicos e fisiológicos apresentam relação de dependência com a temperatura corporal, podendo ser listado como exemplo, o metabolismo celular e os processos digestivos, bem como os parâmetros fisiológicos tais como a frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e a temperatura superficial (TS) (RODRIGUES, 2014).

Em ambientes com temperaturas mais baixa que a temperatura corporal do animal verifica-se a ocorrência de compensações fisiológicas por parte desses, de modo que a produção se eleva e reduz a perda de calor. Já em ambientes quentes observa-se o animal reduzindo o consumo voluntário de alimento na tentativa de reduzir a produção interna de calor e poder dissipá-lo para o ambiente, seja por condução, convecção, radiação ou evaporação (THATCHER, 2010).

Os animais domésticos possuem uma zona de conforto térmico, que conforme as situações do ambiente determinam o seu máximo ou mínimo potencial de manifestar suas atividades zootécnicas (RASLAN, 2008). Nessa zona de conforto também chamada de zona de termoneutralidade, o animal não necessita ativar sua homeostase, havendo gasto mínimo de energia e máxima eficiência produtiva (BACCARI JR., 1998). A temperatura crítica inferior (TCI) e a temperatura crítica superior (TCS) são os limites dessa zona de conforto, sendo que abaixo da TCI, o animal sofre estresse por frio, enquanto que acima da TCS, passa a ser por calor (Figura 6). Temperaturas ligeiramente superiores ou inferiores da TCS ou TCI proporcionam reações fisiológicas e comportamentais, podendo em ocasiões mais graves resultar na morte do animal por hipertermia ou hipotermia, respectivamente (MARTELLO, 2006).

Figura 6 – Zona de termoneutralidade



Fonte: <http://wm.agripoint.com.br/imagens/banco/4593.png>

Para caprinos a zona de conforto térmico preconizada por Baêta & Souza (1997) é de 20 a 30°C, temperaturas fora desse intervalo indicarão quadro de estresse. Frequentemente, os animais são acometidos pelo estresse e desencadeiam susceptibilidade a uma série de patologias que afetam seu estado físico, causando entre outros problemas atraso no crescimento e prejuízos reprodutivos, além de danos emocionais (agressividade, ansiedade e medo) (PINHEIRO & BRITO, 2008).

A temperatura, umidade, irradiação solar e velocidade do vento são dentre os fatores ambientais os que mais causam interferência na produção animal (HULME, 2005), vindo as regiões tropicais limitar os índices de produtividade dos animais em decorrência do estresse térmico (AZEVEDO & ALVES, 2009). Para um animal se adaptar a um ambiente onde foi recentemente inserido vai depender de inúmeras ações a ocorrer em seu organismo e quando submetidos ao estresse em função da ambiência ocorrerá modificações nos parâmetros fisiológicos (DE LA COSTA et al., 1996) e hematológicos (PAES et al., 2000).

Na avaliação da resistência do animal às condições de severidade do clima, temperatura retal (TR) e frequência respiratória (FR) para Muller et al. (1993) são alterações que devem ser levadas em consideração, bem como a temperatura superficial (TS) (SANTOS et al., 2005). Além dessas, a frequência cardíaca (FC) também é outra variável interessante a ser considerada, tendo em vista que valores elevados dessa variável é com maior frequência verificada em animais sob estresse térmico, estando

associada a uma taxa reduzida de produção de calor, como ferramenta de resposta a aumentos de temperaturas no ambiente (KADZERE et al., 2002).

A temperatura retal (TR) é bastante útil na determinação do nível de adaptabilidade dos animais, pois elevações fora dos padrões normais para uma dada espécie funcionam como um indicativo de estocagem de calor por parte do animal que possivelmente se encontra em estresse térmico. Segundo Anderson (1996) a TR em caprinos varia de 38,5 a 39,7 podendo variar conforme a estação do ano e/ou período do dia.

A frequência respiratória (FR) pode ser obtida a partir da auscultação dos movimentos respiratórios ou visualmente através da contagem dos mesmos movimentos na região abdominal (SILVA et al., 2010a). Em caprinos normais o valor médio de FR é estipulado em 15 movimentos respiratórios por minuto, podendo ocorrer variações entre 12 e 25 movimentos, e esse parâmetro é influenciado pelo trabalho muscular, temperatura ambiente, ingestão de alimentos, gestação, idade e tamanho (GUTLER et al., 1987). Quando em desconforto térmico o animal faz uso preferencialmente da frequência respiratória para perder calor para o ambiente (SILVA & ARAUJO, 2000).

Outros parâmetros importantes na detecção do estresse térmico nos animais domésticos é a frequência cardíaca (FC) e a temperatura superficial (TS). Para Fraser (1996) a média da frequência cardíaca para caprinos é de 90 batimentos/minuto ocorrendo variações de 70 a 120 batimentos/minuto. Em experimentos a campo para avaliar o grau de adaptação de caprinos da raça Moxotó ao semiárido Silva et al., (2010b) utilizou de diversos parâmetros fisiológicos, incluindo inclusive a temperatura superficial (TS) e concluíram que pela manhã os animais apresentaram TS de 29,4 °C, valor esse inferior ao da tarde que foi de 31,3 °C. Mesma conclusão foi verificada por Souza et al., (2008) ao trabalharem com caprinos mestiços no semiárido nordestino chegando a valores de TS de 27,2 e 31,6 °C referente aos períodos da manhã e tarde, respectivamente.

O ambiente exerce ainda poder de interferir sobre os parâmetros hematológicos, pois uma vez que o sangue é responsável pela comunicação entre órgãos e tecidos distintos, ao longo do carreamento de substâncias e nutrientes aumentos na frequência respiratória decorrentes de variações edafoclimáticas acabam por influenciar os parâmetros hematológicos (SILVA et al., 2010a), e possivelmente tal interferência seja

mais acentuada em animais portadores do vírus da artrite encefalite caprina, partindo do princípio que os mesmos apresentam o sistema imunológico com debilitado.

O eritrograma constitui parte do hemograma cuja função é a análise da série vermelha do sangue, normalmente já realizado em pacientes acometidos com enfermidades, assim como também em animais, onde nesse ultimamente descobriu-se que o mesmo permite avaliar a capacidade de adaptação do animal ao ambiente, por conta do envolvimento do sangue com os mecanismos de perda de calor (SILVA et al., 2010a). De acordo com Jain (1993) os valores hematológicos normais preconizados para caprinos são: hemácias de 8 a 18 x 10⁶/ml; hemoglobina de 8 a 12 g/d; hematócrito de 22 a 38%; volume globular médio (VGM) de 16 a 25 μ³ e hemoglobina corpuscular média (HCM) de 30 a 36%.

Marai et al., (2008) relataram que a reprodução é afetada pela exposição ao estresse devido ao calor, responsável por causar uma lista de várias mudanças graves nas funções biológicas, agravadas ainda quando conciliada em ocasiões de alto valor de umidade. Em machos, esterilidade estival, degeneração do epitélio germinativo, redução da produção de sêmen e queda de fertilidade são problema oriundos de altas temperaturas (FAÇANHA et al., 2013).

Portanto, em função da importância que a reprodução tem para qualquer sistema de produção animal, minimizar os efeitos deletérios do estresse nos parâmetros reprodutivos e propiciar bem-estar animal faz-se necessário para ajudar na sua adaptação a qualquer tipo de ambiente, de modo que não tenha sua saúde debilitada e, por consequência, ficar mais predisposto a contrair alguma enfermidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, D.A.; BRITO, R.L.L.; RODRIGUES, A.S.; et al. Padronização da técnica de Western Blot para a detecção de anticorpos contra o vírus da CAE no plasma seminal de machos caprinos. In: XIII Encontro de Iniciação Científica, 2011. Sobral. **Anais...** Sobral, 2011(Resumo).
- AISEN, E.G.; VENTURINO, A. Coleta e Avaliação do Sêmen. In: AISEN, E.G.(Ed.). **Reprodução Ovina e Caprina**. 1.ed. São Paulo: MedVet, 2008. p. 57-73.
- ALI AL AHMAD, M.Z.; FIENI, F.; PELLERIN, J.L.; et al. Detection of viral genomes of caprine arthritis-encephalitis vírus (CAEV) in semen and in genital tract tissues of male goat. **Theriogenology**, v.69, p.473-480, 2008.
- ALI AL AHMAD, M.Z.; CHEBLOUNE, Y.; CHATAGNON, G.; et al. Is caprine arthritis encephalitis virus (CAVE) transmitted vertically to early embryo development stages (morulae or blastocyst) via *in vitro* infected frozen sêmen? **Theriogenology**, v. 77, p. 1673-1678, 2012a.
- ALI AL AHMAD, M.Z.; DUBREIL, L.; CHANTAGNON, G; et al. Goat uterine epithelial cells are susceptible to infection with Caprine Arthritis Encephalitis Virus (CAEV) in vivo. *Veterinary Research*, v. 43, n. 5, 2012b.
- AL-QUDAH, K.; AL-MAJALI, A.M.; ISMAIL, Z.B. Epidemiological studies on caprine arthritis-encephalitis virus infection in Jordan. **Small Rumin. Res.** 66(1/3):181-186, 2006.
- ANDERSON, B.E. Regulação da temperatura e fisiologia ambiental. In: SWENSON, M.J.; DUKES, H.H. (10.ed). **Fisiologia dos Animais Domésticos**. Vol. 1, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1996. p. 623-629.
- ANDRÉS, A.; KLEIN, D.; WATT, N.J.; et al. Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. **Veterinary Microbiol**, v. 107, p. 39-62, 2005.
- ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G.; PINHEIRO, R.R.; et al. Detecção do DNA próviral do lentivírus caprino em sêmen de bodes naturalmente infectados. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.420-421, 1999.
- ANDRIOLI, A. **Vírus da artrite encefalite caprina: PCR e isolamento em amostras de sêmen, fluido uterino e embriões**. 2001. 68 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.
- ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G.; ANDRADE, J.S.; et al. Diagnostic of the caprine arthritis encephalitis virus in uterine fluid and embryos of goats by virus isolation in cell culture and PCR Nested. **Theriogenology**, v. 57, p. 567-567, 2002.
- ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G.; MARTINS, A.S.; et al. Fatores de risco na transmissão do lentivírus caprino pelo sêmen. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 8, p. 1313-1319, 2006.

- ASSIS, A.P.M.; GOUVEIA, A.M.G. Evidência sorológica de lentivírus (Maedi Visna / Artrite Encefalite Caprina) em rebanhos nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Bahia, Ceará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23, 1994, Recife. **Anais...Recife**, 1994. p. 104. (Resumo).
- AZEVÊDO, D.M.M.R.; MARTINS FILHO, R.; ALVES, A.A.; et al. Comportamento sexual de ovinos e caprinos machos: uma revisão. **PUBVET**, v. 2, n. 6, 2008.
- AZÊVEDO, D.M.M.R.; ALVES, A.A. **Bioclimatologia aplicada à produção de bovinos leiteiros nos trópicos**. Teresina: EMBRAPA Meio Norte, 2009. 83p. (EMBRAPA – Meio Norte. Documentos, 188).
- BACCARI JUNIOR, F. Adaptação de sistemas de manejo na produção de leite em climas quentes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE, Piracicaba, 1998. **Anais...Piracicaba-SP:FEAL1**, 1998, p. 24-67.
- BAÊTA, F.C.; SOUZA, C.F. **Ambiência em edificações rurais: conforto animal**. Viçosa: UFV, 1997. 246 p.
- BIRGEL JÚNIOR, E. H.; CESTARI, V.; SAMPAIO, R. M.; et al. Influência da infecção pelo vírus da Artrite-Encefalite Caprina nas características físico-químicas e celulares do leite de caprinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 3, p. 199 - 206, 2007.
- BLACKLAWS, B.A.; BERRIATUA, E.; TORSTEINSDOTTIR, S.; et al. Transmission of small ruminant lentiviruses. **Veterinary Microbiology**, v. 101, p. 199-208, 2004.
- BLACKLAWS B.A. Small ruminant lentiviruses: Immunopathogenesis of visna-maedi and caprine arthritis and encephalitis vírus. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 35, p. 259-269, 2012.
- BRELLOU G.D.; ANGELOPOULOU, K.; POUTAHIDIS, T.; et al.. Detection of Maedi-Visna Virus in the liver and heart of naturally infected sheep. **J Comp Pathol**. v. 136, p. 27-35, 2007.
- BRITO, R. L. L. **Implicações da artrite-encefalite caprina na reprodução, produção e na qualidade do leite de cabras**. 2009. 107 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, 2009.
- BROOM, D. Animal welfare: concepts and measurements. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 4167-4175, 1991.
- BROUCEK, J.; KISAC, P.; UHRINCAT, M. Effect of hot temperatures on the hematological parameters, health and performance of calves. **International Journal of Biometeorology**, v. 15, p. 201-208, 2009.
- CARNIELLO, M. **A caprinocultura e o desenvolvimento do Semiárido: uma proposta para a UFCG**. Disponível em: <

http://www.cdsa.ufcg.edu.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=889:a-caprinocultura-e-o-desenvolvimento-do-semiarido-uma-proposta-para-a-ufcg&catid=92:artigos&Itemid=460> Acesso em: 15 jan. 2014.

- COFFIN, J.M. Retroviridae: The virus and their replication. In: FIELDS, B.N.; KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M.; CHANOCK, R.M.; MELNICK, J.L.; MONATH, T.P.; ROIZMAN, B.; STRAUS, S.E. (Ed.). **Fields virology**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996. p.1767-1847.
- CAVALCANTE, F.R.A.; ANDRIOLI, A.; PINHEIRO, R.R.; et al. Detecção do vírus da Artrite Encefalite Caprina por nested PCR e nested RT-PCR em ovócitos e fluido uterino. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.80, n.4, p. 381-386, 2013.
- CLEMENTS, J.; PAYNE, S. Molecular basis of the pathobiology of lentiviruses. **Virus Research**, v.32, p.97-109, 1994.
- CÔRTEZ, J. A.. **Epidemiologia: Conceitos e princípios fundamentais**. São Paulo: Livraria Varela, 1993, p. 227.
- CORTEZ-ROMERO, C.; PELLERIN, J.L.; ALI AL AHMAD, M.Z.; et al. The risk of small ruminant lentivirus (SRLV) transmission with reproductive biotechnologies: State-of-the-art review. **Theriogenology**, v.79, p.1-9, 2013.
- CRAWFORD, T.B.; ADAMS, D.S.; CHEEVERS, W.P.; et al. Chronic arthritis in goats caused by a retrovirus. **Science**, v. 207, n. 29, p. 713-719, 1980.
- CRAWFORD, T.B.; ADAMS, D.S. Caprine arthritisencephalitis: clinical features and presence of antibody in selected goat populations. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.178, n.7, p.713-719, 1981.
- COSTA E SILVA, E.V.; RUEDA, P.M.; CARNEIRO, R.C.PB.; et al. Estratégias para avaliar bem-estar animal em animais em reprodução. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOÉTICA E BEM ESTAR ANIMAL, 2., 2010. Belo Horizonte. **Anais...**Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2010 (Resumo).
- DE LA CONCHA-BERMEJILLO, A.; BRODIE, S.J.; MAGNUS-CORRAL, S.; et al. Pathologic and serological responses of isogeneic twin lambs to phenotypically distinct lentiviruses. **Journal of Acquired Immune Deficient Syndrome and Human Retrovirology**, v. 8, p. 116-123, 1995.
- DE LA COSTA, R.L.; RISCO, C.A.; MOREIRA, F. Efficacy of a timed insemination program in dairy cows during summer heat stress. **Journal Animal Science**, v. 74, n.1, p. 133-139, 1996.
- DELGADILLO, J.A. Características Anatômicas e Funcionais do Sistema Reprodutor do Macho. In: AISEN, E.G. **Reprodução Ovina e Caprina**. São Paulo:MedVet Editora, 2008. p. 1-10.
- EMBRAPA. **SISPRO - Sistema de Produção de Caprinos e Ovinos de Corte para o**

Nordeste Brasileiro. Disponível em:
 <http://www.cnpc.embrapa.br/?pg=orientacoes_tecnicas&uiui=importancia>
 Acesso em: 15 jan. 2014.

FABRE-NYS, C. Le comportement sexuel des caprins: controle hormonal et facteurs sociaux. **INRA Produção Animal**, v. 13, p. 11-23, 2000.

FAÇANHA, D.A.E.; CHAVES, D.F.; MORAIS, J.H.G.; et al. Tendências metodológicas para avaliação da adaptabilidade ao ambiente tropical. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 14, n. 1, p. 91-103, 2013.

FLURI A.; NENCI C.; ZAHNO M.L.; et al. The MHC-haplotype influences primary, but not memory, immune responses to an immunodominant peptide containing T- and B-cell epitopes of the caprine arthritis encephalitis virus Gag protein. **Vaccine**, p. 24, n. 5, p. 597-606, 2006.

FONSECA, L.C.; COSTA, L.F.; SOUSA JUNIOR, J.H.T.; et al. Avaliação de parâmetros etológicos da reprodução de ovinos deslanados durante a estação de monta no Nordeste brasileiro. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 6, 2010, Mossoró. **Anais...Mossoró: Sociedade Nordestina de Produção Animal**, 2010 (Resumo).

FRASER, C.M. **Manual merck de veterinária: Um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário**. São Paulo: Roca, 1996, 169 p.

FRASER, A.F.; KHARB, R.M.; MCCRIDLE, C. et al. **Capacitação para implementar boas práticas de bem-estar animal** – Relatório do Encontro de Especialistas da FAO, 2008. Roma: FAO, 2009. 60p.

GARCIA, A.R. Influência de fatores ambientais sobre características reprodutivas de búfalos do rio (*Bubalus bubalis*). **Revista de Ciência Agrária**, n. 45, 2006.

GONÇALVES, A.L.; LANA, R.P.; VIEIRA, R.A.M.; et al. Avaliação de sistemas de produção de caprinos leiteiros na Região Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.366-376, 2008.

GONÇALVES, P.E.M.; ANDRADE, V.J. Comportamento animal: uma visão geral. In: MARQUES JUNIOR, A.P.; BERGMANN, J.A.G.; HEINEMANN, M.B.; SILVA, N. (Ed.). **Bem-estar animal**. Minas Gerais:FEPMVZ Editora, 2012. p. 9-13.

GOUVEIA, A.M.G.; COURA, M.A.; BRANDÃO, H.M.; et al. Distribuição sorológica do lentivírus caprino em amostragem por demanda. In: ENCONTRO DE PESQUISA DA ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG, Belo Horizonte. **Anais...Belo Horizonte**, 1998, p. 116.

GOUVEIA, A.M.G. Aspectos sanitários da caprinovinocultura no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 2., 2003, João Pessoa, PB **Anais...2003**. p.115-131(Resumo).

- GREGORY, L.; LARA, M.C.C.S.H.; HASEGAWA, M.Y.; et al. Detecção do vírus da artrite encefalite caprina no sêmen através das técnicas de PCR e Nested-PCR. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 78, n. 4, p.599-603, 2011.
- GUTLER, H.; KETZ, A.; KOLB, E. et al. **Fisiologia Veterinária**. 4ªed. Guanabra Koogan, Rio de Janeiro, 1987. 612p.
- HANSON, J.; HYDBRING, E.; OLSSON, K. A long term study of goats naturally infected with caprine arthritis-encephalitis vírus. **Acta Veterinary Scandinavian**, v. 37, p. 31-39, 1996.
- HOUWERS, D.J.; NAUTA, I.M. Immunoblot analysis of the antibody response to ovine lentivirus infections. **Veterinary Microbiology**, v. 19, p. 127-139, 1989.
- HULME, P.H. Adapting to climate change: is there scope for ecological management in the face of a global threat. **Journal of Applied Ecology**. Londres, v. 42, n.5, p. 784-794, 2005.
- ICVT. International Committee on Taxonomy of Viruses. Disponível em: Acesso em 12 fev. 2008.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Pesquisa Pecuária Municipal. Rio de Janeiro: IBGE. 2007. Disponível em: < www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/defaultt_ab_censoagro.shtm. > Acesso em: 15/01/2014.
- JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lea & Febinger, 1993. 417p.
- KADZERE, M.R.; MURPHY, N.; SILANIKOVE, E.; et al. Heat stress in lactating dairy cows: a review. **Livestock Production Science**, v.77, p. 59-91, 2002.
- KURIEN, B.T.; SCOWELD, H.R. Western Blotting. **Methods**, v. 38, p. 283-293, 2006.
- LAMARA, A.; FIENI, F.; MSELLI-LAKHAL, L.; et al. Efficient replication of caprine arthritis-encephalitis vírus in goat granulosa cells. **Virus Research**, v. 79, p. 165-172, 2001.
- LAMARA, A.; FIENI, F.; MSELLI-LAKHAL, L.; et al. Epithelial cells from goat oviduct are highly permissive for productive infection with caprine arthritis-encephalitis vírus (CAEV). **Virus Research**, v. 87, p. 69-77, 2002.
- LARA, M.C.C.S.H.; BIRGEL JUNIOR, E.H.; GREGORY, L.; et al. Aspectos clínicos da artrite-encefalite dos caprinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.6, p,736-740, 2005.
- LARA, M.C.C.S.H. Artrite-encefalite dos caprinos. **Instituto Biológico**, v.68, n.1/2, p.21-23, 2006.

- LEITE, R.C.; REIS, J.K.P.; OLIVEIRA, A.P.; et al. Retrovíroses dos animais domésticos. **Veterinária e Zootecnia**, 2013; 20 (Edição Comemorativa):73-92.
- LIMA, W.C. **Resistência anti-helmíntica na caprinocultura leiteira do arranjo familiar do cariri paraibano**. 2010. 65 f. Dissertação (Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos – PB, 2010.
- LIMA, C.C.V. **Inquérito soropidemiológico da artrite-encefalite caprina na microrregião de Juazeiro – Bahia e comparação de técnicas imunodiagnósticas**. 2012. 87 f. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos) – Universidade Federal da Bahia, 2012.
- MACPHEE, D.J. Methodological considerations for improving Western Blot analysis. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 61, p. 171-177, 2010.
- MAIA, M.S. **Tecnologia do sêmen e inseminação artificial em caprinos e ovinos**. Natal: EMPARN, 2010. XXp.; v.13, il. (Circuito de tecnologias adaptadas para a agricultura familiar; 7) ISSN: 1983-280X.
- MARTELLO, L.S. **Interação animal-ambiente: efeito do ambiente climático sobre as respostas fisiológicas e produtivas de vacas Holandesas em free-stall**, 2006. 106 f. Tese (Doutorado em Qualidade e Produtividade Animal) – Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2006.
- MARAI, I.F.M.; EL-DARAWANY, A.A.; FADIEL, A.; et al. Reproductive performance traits as affected by heat stress and its alleviation in sheep; a review. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, n8, p. 209-234, 2008.
- MCNEILLY, T.N.; BAKER, A.; BROWN, J.K.; et al. Role of alveolar macrophages in respiratory transmission of Visna/Maedi virus. **Journal Virology**, v. 82, p. 1526–1536, 2008.
- MIGUEL, M.P.; MENEZES, L.B.; ARAUJO, E.G. Western Blotting: A técnica e aplicações na pesquisa e rotina diagnóstica em medicina veterinária. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 8, n. 15, p. 1704, 2012.
- MODOLO, J.R.; STACCHISSINI, A.V.M., CASTRO, R.S. et al. **Planejamento de saúde animal para o controle da artrite-encefalite caprina**. Gráfica Santana, Cultura Acadêmica, Botucatu, 78 pp, 2003.
- MOOJEN, V.; SOARES, H.C.; RAVAZZOLO, A.P.; et al. Evidência de infecção pelo lentivirus (maedi-visna/artrite encefalite caprina) em caprinos no Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivo da Faculdade de Medicina Veterinária - UFRGS**, v. 14, p.77-78, 1986.
- MULLER, C.J.; BOTHA, J.A.; SMITH, W.A. Effect os shade on various parameters of Friesian cows in a Mediterranean climate in South África. **South African Journal of Animal Science**, v.24, p. 61-66, 1993.

- NASH, J.W.; HANSON, L.A.; COATS, K.C. Bovine immunodeficiency virus in stud bull semen. **American Journal of Veterinary Research**, v.56, p.760-763, 1995.
- NOGUEIRA, D.M.; PINHEIRO, R.R.; ALVES, F.S.F. **Artrite encefalite caprina viral: um alerta aos produtores**. Sobral: EMBRAPA Caprinos e Ovinos, 2009. 5p. (EMBRAPA-CNPCCO. Comunicado Técnico, 139).
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. Manual of standards diagnostic tests and vaccines. World Organization for Animal Health, Paris: OIE, 2004. p.1178, 5.ed.
- OLIVEIRA, M.M.M. **Diagnóstico e controle de lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR) em caprinos**. 2007, 114 f. Tese (Pós-Graduação em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural do Pernambuco, 2007.
- OLIVEIRA, M.M.M.; MELO, M.A.; ANDRADE, P.P.; et al. Western Blot para o diagnóstico das infecções pelos lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos: um método simples para a produção de antígeno. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 75, n. 3, p. 263-270, 2008.
- PAES, P.R.; BAIRONI, G.; FONTEQUE, J.R. Comparação dos valores hematológicos entre caprinos fêmeas da raça Parda Alpina de diferentes faixas etárias. **Veterinária Notícias**, v.6, n.1, p. 43-49, 2000.
- PARANHOS DA COSTA, M.J.R.(2000). Ambiência na produção de bovinos de corte a pasto. **Anais de Etologia**, **18**: 26-42.
- PAULA, N.R.O. **Parâmetros clínicos, hematológicos, sorológicos e reprodutivos em reprodutores natural e experimentalmente infectados com CAEV**. 2008, 193f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2008a.
- PAULA, N.R.O.; ANDRIOLI, A.; CARDOSO, J.F.S.; et al. **Reprodução no Macho Caprino: Análise Básica e Aplicada**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2008b. 30p. Documentos, 79.
- PAULA, N.R.O.; ANDRIOLI, A.; CARDOSO, J.F.S.; et al. Profile of the Caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in blood, semen from bucks naturally and experimentally infected in the semi-arid region of Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 85, p. 27-33, 2009.
- PETERSON, K.; BRINKHOF, J.; HOUWERS, D.J.; et al. Presence of pro-lentiviral DNA in male sexual organs and ejaculates of small ruminants. **Theriogenology**, v.69, p.433-442, 2008.
- PER JENSEN, (2002). (Ed) The ethology of domesticated animals – an introductory text. CABI, WALLINGFORD.

- PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F. Prevalência da infecção pelo Vírus da Artrite-Encefalite Caprina no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 449- 454, 2001.
- PINHEIRO, R. R.; CHAGAS, A. C. S.; ANDRIOLI, A.; et al. **Viroses de pequenos ruminantes**. Sobral, CE: Embrapa Caprinos, 2003. 30 p. (Série Documentos, 46).
- PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F.; et al. Medidas carpometacarpianas como índice articular clínico em caprinos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.27, n.4, p.170-173, 2005.
- PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; TORRES, A.M.C.; et al. Custo dos antígenos a dos testes de diagnóstico de lentivírus de pequenos ruminantes. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 28, p.110-113, 2006.
- PINHEIRO, A.A.; BRITO, I.F. **Bem estar e produção animal**. Sobral: EMBRAPA Caprinos e Ovinos, 2009. 27p. (EMBRAPA-CNPCO. Documentos, 97).
- PUGH, D.C. **Clínica de ovinos e caprinos**. 1ed. São Paulo: Roca, 2004. 513p.
- QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; et al. Retroviridae. Grupo dos Lentivírus de Pequenos Ruminantes. In: *Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas*. Porto Alegre: Artmed, 2005, p. 346-357.
- RAMÍREZ, H.; SAN ROMÁN, B.; GLARIA, I.; et al. Antibody-based diagnosis of small ruminant lentivirus infection in seminal fluid. **Theriogenology**, v.72, p. 1085-1096, 2009.
- RASLAN, L.S.A. **Aspectos comportamentais e fisiológicos de ovino SRD sob pastejo com e sem sombreamento**. 2008, 99f. Dissertação (Pós-Graduação em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2008.
- RODRÍGUEZ, H.A.M.; ÁLVAREZ, H.R.; PÉREZ, J.T. et al. Effect of the caprine arthritis encephalitis virus in the reproductive system of male goats. **Veterinaria México**, v.36, n.2, p. 159-176, 2005.
- RODRIGUÉZ-MARTINÉZ, H. Can we increase the estimative value of semen assessment? **Reprodução Domestica Animal**, v.41, suppl.2, p.2-10, 2006.
- RODRIGUÉZ-MARTINÉZ, H. State of the art in farm animal sperm evaluation. **Reprodução Fertilidade Development**, v.19, p.91-101, 2007.
- RODRIGUES, A.S.; BRITO, R.L.L.; SANTOS, V.W.S.; et al. Comparação de dois testes sorológicos na evolução da infecção natural de caprinos leiteiros com o vírus da Artrite Encefalite Caprina – dados preliminares. In: 4º Simpósio Internacional Sobre Caprinos e Ovinos de Corte. João Pessoa: 2009. **Anais...João Pessoa**, 2009.
- RODRIGUES, E. **Conforto Térmico das Construções**. Capítulo 3. Fisiologia da Homeotermia. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/145591357/Fisiologia-Da-Homeotermia>. Acessado em: 15/05/2014.

- SANCHES, B.G.S., SOUZA, F.N.; AZEDO, M.R.; et al. Fagocitose intensificada de *Cornibacterium pseudotuberculosis* por células da série monócito-macrófago de caprinos naturalmente infectados pelo vírus da artrite encefalite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 12, p. 1225-1229, 2012.
- SANTOS, F.C.B.; SOUZA, B.B.; ALFARO, C.E.P.; et al. Adaptabilidade de caprinos exóticos e naturalizados ao clima semiárido do Nordeste Brasileiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.1, p. 142-149, 2005.
- SILVA, R.R. **Agribusiness da caprinocultura de leite no Brasil**. Salvador: Bureau, 1998. 74p.
- SILVA, F.L.R.; ARAUJO, A.M. Desempenho produtivo em caprinos mestiços no semiárido do Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p. 1028-1035, 2000.
- SILVA, J.H.M. **Artrite Encefalite Caprina – CAE**. 2005, 32 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Centro Regional Universitário de Espírito Santo do Pinhal (UNIPINHAL) – Espírito Santo do Pinhal, 2005.
- SILVA, R.G. **Biofísica Ambiental “Os animais e seu ambiente”**. São Paulo: Funep. 2008. 450p.
- SILVA, E.M.N.; SOUZA, B.B.; SILVA, G.A. Parâmetros fisiológicos e hematológicos de caprinos em função da adaptabilidade ao semiárido. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v.6, n.3, p. 01-06, 2010a.
- SILVA, E.M.N.; SOUZA, B.B.; SOUSA, O.B.; et al. Avaliação da adaptabilidade de caprinos ao semiárido através de parâmetros fisiológicos e estruturas do tegumento. **Revista Caatinga**, v.23, p.142-148, 2010b.
- SORENSEN, J.T.; FRASER, D. On-farm welfare assessment for regulatory purposes: issues and possible solutions. **Livestock Science**, v.131, p. 1-7, 2010.
- SOUZA, B.B.; SOUZA, E.D.; SILVA, R.M.N.; et al. Respostas fisiológicas de caprinos de diferentes grupos genéticos no semiárido paraibano. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p. 314-320, 2008.
- SOUZA, K.C. **Artrite-encefalite caprina: Infecção experimental via inseminação artificial e acompanhamento clínico e sorológico**. 2010, 100 f. Dissertação (Pós-Graduação em Zootecnia) – Universidade Estadual Vale do Acaraú – Sobral, 2010.
- SOUZA, K.C.; PINHEIRO, R.R.; SANTOS, D.O.; et al. Transmission of the caprine arthritis-encephalitis virus through artificial insemination. **Small Ruminant Research**, v.109, p.193-198, 2013.
- SOUSA, A.L.M. **Avaliação da sensibilidade de testes de Imunodiagnóstico para detecção de anticorpos contra o vírus da Artrite Encefalite Caprina**. 2013, 21f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) – Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, 2013.

- THATCHER, W.W. Manejo de estresse calórico e estratégias para melhorar o desempenho lactacional e reprodutivo de vacas de leite. In: CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 14, 2010. Uberlândia, MG. **Anais...**Uberlândia, MG. 2010. p. 2-25.
- THOMZIG, A.; SCHULZ-SCHAEFFER, W.; WREDE, A.; et al. Accumulation of pathological prion protein PrP^{Sc} in the skin of animals with experimental and natural scrapie. **Public Library of Science Pathogens**, San Diego. v.3, n.5, p.659-667, 2007.
- TRAVASSOS, C.E.; BENOÎT, C.; VALAS, S.; et al. Caprine arthritis-encephalitis vírus in semen of naturally infected bucks. **Small Ruminant Research**, v.32, p.101-106, 1999.
- TURCHETTI, A.P.; PANIAGO, J.J.; COSTA, L.F.; et al. Distribution of caprine arthritis encephalitis vírus provirus, RNA, and antigen in the reproductive tract of one naturally and seven experimentally infected bucks. **Theriogenology**, v. 80, p. 933-939, 2013.
- VERGARA, T.R.C.; BARROSO, P.F. Transmissão Sexual do HIV. **Tendências em HIV**, v. 1, n. 4, p. 17-24, 2014. 2014.
- VILLORIA, M.; LEGINAGOIKOA, I.; LUJÁN, L.; et al. Detection of Small Ruminant Lentivirus in environmental samples of air and water. **Small Ruminant Research**, v. 110, p. 155-160, 2013.
- VITALIANO, A.B. **Avaliação do comportamento reprodutivo caprino e ovino com o uso do efeito macho interespecie**. 2011. 94 f. Dissertação (Pós-Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal do Ceará – Fortaleza, 2011.
- YORINORI, E.H.; PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; et al. Estudo Soroepidemiológico da Artrite-Encefalite Caprina nas Regiões Norte e Nordeste de Minas Gerais. Revista Universidade Rural. **Série Ciências da Vida**, v. 23, p. 259-260, 2003.
- ZANONI, R.; KRIEG, A.; PETERHANS, E. Detection of antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus by protein G enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblotting. **Journal of Clinical Microbiology**, v.27, p.580-582, 1989.
- ZINK M.C.; YAGER J.A.; MYERS J.D. Pathogenesis of caprine arthritis-encephalitis virus; Cellular localization of viral transcripts in tissues of infected goats. **Am. J. Pathol.**, v. 136, n. 4, p. 843-854, 1990.

CAPÍTULO 2
PARÂMETROS FISIOLÓGICOS, HEMATOLÓGICOS E
COMPORTAMENTAIS DE REPRODUTORES CAPRINOS COM
INFECÇÃO RECENTE E CRÔNICA PARA O VÍRUS DA ARTRITE
ENCEFALITE CAPRINA (CAEV)

PHYSIOLOGICAL PARAMETERS, BEHAVIORAL AND
HEMATOLOGICAL OF BREEDING GOATS INFECTED BY CHRONIC
AND RECENT INFECTION FOR CAPRINE ARTHRITIS
ENCEPHALITIS VIRUS (CAEV)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar se o vírus da Artrite Encefalite Caprina interfere nos parâmetros clínicos, fisiológicos e hematológicos de reprodutores caprinos com infecção recente e crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV). Foram utilizados 12 reprodutores caprinos de diferentes raças, em bom estado de saúde, de acordo com exame clínico geral realizado, os quais foram mantidos durante todo o período experimental (270 dias) em regime intensivo de produção. Os machos tinham de três a quatro anos de idade, e foram selecionados com base no quadro sorológico para o CAEV, sendo seis soropositivos (com infecção natural crônica há mais de 12 meses) e seis soronegativos após três testes consecutivos de *Western Blotting* (WB) e de nPCR no sangue, com intervalo de 30 dias. Os animais foram divididos inicialmente em dois grupos: o grupo de machos com infecção crônica e o grupo de machos livres do CAEV (pré-infecção), os quais foram inoculados com a cepa viral CAEV-Cork, título $10^{5,6}$ TCID₅₀/mL, por via intravenosa, após 90 dias do início do experimento. A partir da inoculação viral o grupo pré-infecção passou a ser denominado de grupo de reprodutores caprinos com infecção recente e foram acompanhados semanalmente por testes de WB até a soroconversão, sendo que após a terceira semana pós inoculação todos os animais já haviam soroconvertido. Os reprodutores dos dois grupos apresentaram parâmetros fisiológicos e hematológicos dentro dos padrões de normalidade para a espécie. Quanto aos parâmetros de comportamento sexual, foi observado que os animais não apresentaram receio à presença do homem em sala de coleta e que a maioria apresentou o comportamento de cortejo da fêmea. O tempo de reação não diferiu ($p > 0,05$) entre os grupos e está dentro dos parâmetros normais para a espécie. Concluiu-se que o CAEV não interferiu nos parâmetros fisiológicos e hematológicos de reprodutores caprinos, independente do tempo de infecção para o CAEV. Em adição, a CAE não altera o padrão de comportamento sexual, porém quando os animais apresentam artrite há um quadro de dor e desconforto, afetando o comportamento sexual e comprometendo o bem-estar do reprodutor.

Palavras – chave: CAE, caprinos, comportamento, eritrograma, lentivírus

ABSTRAT

The aim of this study was to verify if the Caprine Arthritis Encephalitis virus affects the clinical, physiological and hematological parameters for bucks with recent and chronic CAEV infection. 12 male goats of different breeds were used, in good health, according to general clinical examination, which were maintained throughout the experimental period (270 days) in intensive system of production. Males of three to four years of age, and were selected based on serological tests for CAEV, being six seropositive (with chronic natural infection for more than 12 months) and six seronegative after three consecutive tests Western Blotting (WB) and of *n*PCR in the blood, with an interval of 30 days. Animals were divided into two groups: the group of males with chronic infection, and the group males free of the CAEV (pre-infection), which were inoculated with the viral strain CAEV-Cork title $10^{5.6}$ TCID₅₀/ml, intravenously, 90 days after the beginning of the experiment. From the viral inoculation pre-infection group came to be named group for breeding with recent infection and were monitored weekly for WB testing until seroconversion, and after the third week after inoculation all animals had already seroconverted. The breeders of the two groups showed physiological and hematological within normal limits for the species parameters. Regarding the parameters of sexual behavior, it was observed that the animals showed no fear of human contact in the collection room and realized that the majority held the courtship behavior of the female. The reaction time did not differ ($p>0.05$) between groups and is within normal parameters for the species. It was concluded that the CAEV did not affect the physiological and hematological parameters of bucks, regardless of time of infection for CAEV. In addition, the CAE does not alter the pattern of sexual behavior, but when they show arthritis there is a picture of pain and discomfort, affecting sexual behavior and compromising the welfare of the males goats.

Keywords: CAE, goats, behavior, erythrogram, lentivirus.

INTRODUÇÃO

A produção de pequenos ruminantes assumiu nas últimas décadas grande importância acentuada no cenário do agronegócio brasileiro, e hoje não é mais considerada apenas uma atividade de subsistência, mas sim uma atividade geradora de emprego e renda. No semiárido nordestino, a caprinocultura tem ganhado, a cada dia, mais destaque, e tem se apresentado como uma alternativa para o desenvolvimento dessa região, em virtude da boa adaptação dos caprinos às características climáticas do Nordeste (SILVA et al., 2006).

Entretanto, por conta desta característica de adaptação da espécie caprina ao clima da região Nordeste, e na tentativa de conciliar essa característica a uma boa produtividade, a importação de animais de alto potencial genético em programas de melhoramento animal acabaram por favorecer a entrada de enfermidades, como por exemplo, a Artrite Encefalite Caprina (CAE), responsável por grandes perdas econômicas dentro de um rebanho acometido.

O Nordeste brasileiro é caracterizado por temperaturas elevadas, baixa umidade do ar, alta insolação, elevadas taxas de evaporação, e escassez ou distribuição irregular de chuvas (FERREIRA et al., 2009). Neste ambiente, os animais respondem, fisiologicamente, modificando o seu organismo, resultando em aumento da temperatura superficial e retal, aumento da frequência respiratória, e redução da ingestão de alimentos o que prejudica o desempenho produtivo e reprodutivo (BRASIL et al., 2000; PEREIRA et al., 2011).

Para mensurar as alterações fisiológicas e, conseqüentemente, o grau de adaptação dos animais a um dado ambiente onde este está inserido, comumente é utilizado parâmetros fisiológicos, tais como: a avaliação da temperatura retal (TR) que é um indicativo do equilíbrio entre o ganho e perda de calor, além de ser um critério de diagnóstico de doenças (PEREIRA et al., 2011); a frequência respiratória (FR) também bastante utilizado para medir o grau de adaptação e o estresse calórico (SOUZA et al., 2005); bem como a temperatura superficial (TS) (SANTOS et al., 2005). Além dessas, a frequência cardíaca é outra variável a ser considerada, já que normalmente valores elevados dessa são verificados em animais em situação de estresse térmico, além de estar associada a uma taxa reduzida de produção de calor, como artifício de resposta a índices elevados de temperatura no ambiente (KADZERE et al., 2002). Nos últimos

tempos, em conjunto com essas variáveis fisiológicas os parâmetros hematológicos têm sido mundialmente útil na avaliação, não só do estado de saúde de um animal, mas também um indicador de estresse calórico (PAES et al., 2000).

Em situações de estresse, conseqüentemente o bem-estar animal é afetado e resulta no desencadeamento de uma cadeia de alterações no organismo do animal, juntamente com alterações nas condições físicas e psicológicas do mesmo, que irão se refletir, por sua vez, em transformações no seu comportamento (PINHEIRO & BRITO, 2009). No caso de reprodutores caprinos essa modificação no comportamento é perfeitamente visualizada na atividade reprodutiva, que é dos processos fisiológicos o que apresenta maiores níveis de susceptibilidade aos efeitos do comprometimento do bem-estar animal, porém por esse efeito ocorrer de maneira sutil faz com que se torne difícil identificar o quanto ela é comprometida, principalmente em se tratando de machos caprinos infectados com o vírus da Artrite Encefalite Caprinos (CAEV), mas o que se sabe, é que de maneira geral leva a problemas de subfertilidade, ou de infertilidade, quando em ocasiões de maior gravidade (COSTA E SILVA et al., 2010).

Nessa perspectiva, os conhecimentos do comportamento sexual de reprodutores caprinos, associado às mensurações de variáveis fisiológicas e hematológicas, podem ser um grande indicativo do grau de adaptação do animal a um dado ambiente, e se seu desempenho reprodutivo se situa dentro da normalidade para a espécie, permitindo que o produtor utilize o mesmo de maneira racional (SANTOS et al., 2006).

Portanto, objetivou-se como este estudo verificar se o vírus da Artrite Encefalite Caprina interfere nos parâmetros clínicos, fisiológicos e hematológicos de reprodutores caprinos com infecção recente e crônica para a Artrite Encefalite Caprina (CAE).

MATERIAL E MÉTODOS

Período e Local

O presente estudo foi realizado no período de julho de 2013 a janeiro de 2014, na Embrapa Caprinos e Ovinos, localizada no município de Sobral – CE, a 3° 41'S e 40° 20'W. O clima da região é do tipo BShw', segundo a classificação de Köppen, com estação chuvosa compreendida entre os meses de janeiro e maio e a estação seca entre os meses de junho a dezembro (MILLER, 1971).

Animais Experimentais

Foram utilizados 12 reprodutores caprinos de diferentes raças com idade variando de três a quatro anos, selecionados com base no quadro sorológico para o CAEV, sendo seis soropositivos (com infecção natural crônica há mais de 12 meses) e seis soronegativos, obtidos após três testes consecutivos de *Western Blotting* (WB) e de *Nested – PCR* (PCRn) no sangue, com intervalo de 30 dias. Os animais foram divididos inicialmente em dois grupos (negativo e positivo para o CAEV) com seis animais cada, todos em bom estado de saúde, de acordo com exame clínico geral realizado segundo Diffay et al. (2005).

Os animais foram mantidos durante todo o período experimental (270 dias) em regime intensivo de produção, alojados em baias coletivas de um aprisco parcialmente coberto localizado com orientação leste/oeste, e sendo sua alimentação ao longo de todo o experimento constituída de concentrado (300 g/animal) e volumoso a base de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) picado e fornecido no cocho, além de água e sal mineral *ad libitum*.

O experimento foi realizado de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, sendo submetido e aprovado no dia 20 de abril de 2012 pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA/UVA, recebendo o número de protocolo 010.12.

Inoculação Viral

Seis reprodutores selecionados e livres do CAEV pertencentes ao grupo de jovens negativo, após 90 dias de início do experimento foram inoculados com um mililitro de Meio Essencial Mínimo (MEM) contendo a cepa viral CAEV-Cork, título $10^{5,6}$ TCID₅₀/mL, por via intravenosa, e passou-se a denominar de grupo de reprodutores com infecção recente, acompanhados semanalmente por testes de WB até a soroconversão.

O preparo do inóculo viral foi realizado no Laboratório de Virologia, segundo Guedes (1999), utilizando-se amostra viral padrão (CAEV-Cork), replicadas em células de membrana sinovial caprina (MSC), e obtidas por explantação. Os sobrenadantes desses cultivos celulares inoculados foram titulados em microplacas, por diluições decimais em MEM com 2% de soro fetal bovino (SFB), usando-se oito repetições (poços) por diluição. Em cada poço distribuiu-se 50µL da diluição viral e, após uma hora de incubação a 37°C em 5% de atmosfera de CO₂, foram adicionados 50µL da suspensão de células de MSC. Aos quatorze dias pós-inoculação, obteve-se o título segundo a técnica de Reed & Muench (1938) e calculada a dose infectante com a titulação viral de $10^{5,6}$ TCID₅₀/mL.

Avaliação do comportamento sexual

Os animais experimentais foram treinados para a coleta de sêmen por vagina artificial, quinzenalmente, por três meses antes do início do experimento.

Em sala de coleta de sêmen os animais eram submetidos à avaliação dos seguintes indicadores comportamentais: tempo de reação (TRç), ocorrência de cortejo (OC), interesse pela fêmea (IF), quantidade de montas (QM) e relação homem/animal.

O TRç definido como o período de tempo, entre a liberação do reprodutor com acesso à uma fêmea em estro até a primeira monta com ejaculação, e foi mensurado com cronometro digital em segundos. Para classificar o TRç foi adotado o seguinte critério: ótimo (0-15 seg.), bom (16 – 30 seg.), médio (31-45seg.) e ruim (36 – 60 seg.), e a partir dessa cronometragem se determinava o IF. Já a QM, a OC e a relação homem/animal se determinava pela visualização do comportamento do animal em sala de coleta.

Coleta de Sangue

Mensalmente realizava-se a coleta de sangue por punção da veia jugular utilizando-se sistema vacutainer[®], com tubos de 5 mL com anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), o sangue coletado em seguida era submetido a realização de um hemograma, no qual mensurou-se os seguintes parâmetros hematológicos: contagem de hemácias em câmaras hematrímétricas (milhões/ μ L), microhematócrito (%), hemoglobina pelo método da cianometahemoglobina (g/dL), volume corpuscular médio (VCM) (fL), hemoglobina corpuscular médio (HCM) (pg), concentração de hemoglobina corpuscular médio (CHCM) (%), assim como contagem de leucócitos em câmaras hematrímétricas (milhares/ μ L).

Exame Clínico e Parâmetros Fisiológicos

Em todos os grupos desde o início do experimento foram feitas mensurações, mensais, das articulações carpo-metacarpo para o cálculo do índice de articulação clínico (IAC) segundo metodologia descrita por Pinheiro et al. (2005) e exames clínico andrológico completo.

Além disso, quinzenalmente eram avaliados e mensurados sempre às 8h:00 da manhã à frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura superficial da pele (TS) e a temperatura retal (TR). A FC foi obtida com auxílio de um estetoscópio e a FR foi obtida através da observação dos movimentos respiratórios no flanco do animal durante 30 segundos, vindo depois a multiplicar esse valor por dois objetivando estimar a FR no intervalo de um minuto. A TR foi obtida utilizando-se um termômetro clínico digital, introduzido diretamente no reto do animal. Já a TS foi medida a 10 cm da região dorsal dos animais, por intermédio de um termômetro infravermelho digital portátil, com mira laser (MT-350 Missipa).

Parâmetros Ambientais

As variáveis ambientais temperatura e umidade relativa do ar foram monitoradas a cada cinco minutos, ao longo de todo o período experimental. Para isso, três *Data Loggers* (HOBO PRO V2 Onset) (Figura 1) foram distribuídas, estrategicamente, nos

locais onde os animais se encontravam e frequentavam, sendo um na sala de coleta de sêmen, um na baia do grupo negativo e outro na do grupo positivo. Os dados coletados pelos *Data loggers* foram agrupados e as médias calculadas para os diferentes períodos do dia: brando (22:00 às 3:59 horas), médio I (04:00 às 09:59 horas), crítico (10:00 às 15:59 horas) e médio II (16:00 às 21:59 horas). Além disso, dados da estação automática do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), mensuradas a cada uma hora, localizada na Fazenda Três Lagoas Estrada Sobral-Groaíras, Km 4, no município de Sobral-Ce para monitoramentos do clima local, , foram levados em consideração.

Figura 1 – Modelo de *Data Logger* utilizado na mensuração da temperatura e umidade nos diferentes ambientes.



Fonte: Renato M. Peixoto

Análise dos Dados

Os resultados dos parâmetros avaliados em ambos os grupos foram expressos por meio de média e desvio padrão. Posteriormente foram analisados pelos testes de Shapiro-Wilk e Battlet para verificar os pressupostos de normalidade e homogeneidade das variáveis, respectivamente. Aquelas que não atenderam as condições previamente determinadas se aplicou a transformação logarítmica de base 10. Realizado isso, foi feita análise de variância e médias e desvio padrões foram comparadas pelo Teste de Turkey a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média e o desvio padrão de temperatura e umidade nos ambientes onde os animais permaneciam, ao longo dos diferentes períodos do dia, conforme foi determinado, podem ser evidenciadas na tabela 1 e 2.

Tabela 1 – Dados de temperatura e umidade da baía dos reprodutores com infecção recente para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) nos diferentes períodos do dia.

	Temperatura (°C)				Umidade (%)			
	Brando	Médio I	Crítico	Médio II	Brando	Médio I	Crítico	Médio II
Julho	24,29 ±	24,83 ±	31,86 ±	28,48 ±	87,54 ±	85,89 ±	64,48 ±	65,86 ±
	1,24	2,62	2,05	2,56	6,41	11,54	20,05	14,61
Agosto	25,32 ±	26,30 ±	34,44 ±	30,57 ±	79,27 ±	76,04 ±	41,94 ±	54,46 ±
	1,15	2,77	1,50	2,86	5,28	11,69	5,76	12,72
Setembro	25,65 ±	27,21 ±	35,64 ±	30,55 ±	76,81 ±	69,11 ±	37,46 ±	54,45 ±
	0,85	2,81	1,44	3,19	5,15	12,52	5,77	13,11
Outubro	25,54 ±	27,45 ±	36,13 ±	30,30 ±	77,51 ±	69,31 ±	36,47 ±	55,35 ±
	0,69	3,07	1,39	3,17	4,73	13,11	5,71	12,20
Novembro	25,45 ±	27,18 ±	34,80 ±	29,76 ±	80,52 ±	74,41 ±	43,54 ±	60,03 ±
	0,84	2,75	1,82	3,02	5,82	12,39	7,73	13,00
Dezembro	25,47 ±	26,71 ±	34,54 ±	29,97 ±	82,15 ±	77,72 ±	45,32 ±	60,12 ±
	0,77	2,71	2,37	2,93	5,78	12,25	11,08	12,15
Janeiro	25,37 ±	26,42 ±	32,94 ±	28,53 ±	87,54 ±	83,73 ±	54,30 ±	70,49 ±
	0,97	2,31	2,81	3,14	6,74	11,37	14,24	15,49
Fevereiro	25,29 ±	26,16 ±	32,06 ±	28,14 ±	89,98 ±	87,22 ±	61,59 ±	76,32 ±
	0,90	2,21	2,73	2,82	6,07	10,29	14,03	14,66
Março	25,17 ±	25,99 ±	31,83 ±	27,58 ±	94,07 ±	91,37 ±	67,55 ±	83,49 ±
	0,85	2,12	2,36	2,3	4,07	8,18	11,93	11,99
Período	25,54 ±	26,34 ±	33,99 ±	29,33 ±	84,02 ±	79,96 ±	48,82 ±	64,26 ±
Total	0,69	2,59	2,89	3,21	8,95	14,17	15,71	17,55

Períodos do dia: (brando – das 22hs00 às 03hs59; médio I – das 04hs00 às 09hs59; crítico – das 10hs00 às 15hs59; médio II – 16hs00 às 21hs59).

Na tabela 1 nota-se que as médias de temperatura ambiente, de modo geral, permaneceram com valores dentro da zona de termoneutralidade para caprinos, que segundo Baêta & Souza (1997) é de 20 a 30 °C, com exceção apenas do período crítico (10-15h59min) cujos valores ficaram ao longo de todo o experimento acima dessa zona de conforto estabelecida por esses autores. Desse modo, pode-se dizer que durante esse período, que os animais não permaneceram na sua zona de termoneutralidade, que os mesmos apresentaram uma maior requisição de energia no intuito de manter constante sua temperatura corporal e seu comportamento fisiológico. Resultados semelhantes

foram obtidos por Gomes et al., (2008) e Souza et al., (2011) e que também relataram temperaturas elevadas ficando fora da zona de conforto para caprinos nas horas mais quentes do dia em trabalhos realizados na região semiárida nordestina.

Com relação à umidade relativa essa permaneceu sempre instável ao longo do período experimental nos diferentes períodos, ficando algumas vezes dentro do intervalo recomendado para caprinos que é entre 40 e 70 % (Baêta & Souza, 1997). Os períodos brando (22h00min às 03h59min) e médio I (04h00min às 09h59min) foram comumente evidenciados os maiores índices dessa variável ambiental, tendo em vista o englobamento do horário noturno e das primeiras horas da manhã atrelado a esse período, ao passo que os períodos crítico (10h00min às 15h59min) e médio II (16h00min às 21h59min) caracterizado por horários mais quentes do dia, foram observados os menores valores de umidade relativa. Gomes et al., (2008) e Souza et al., (2011) evidenciaram situação de similaridade com os resultados desse trabalho, uma vez que encontraram valores altos de umidade de 60 a 80 % também no período da manhã, e valores menores variando de 41 a 45% no período da tarde.

Na tabela 2 que representa os valores das variáveis ambientais (temperatura e umidade relativa) na ala dos reprodutores com infecção crônica para o CAEV observa-se a mesma situação demonstrada na ala dos reprodutores com infecção recente, em que o período crítico foi também o horário onde os animais requereram maiores quantidades de energia e fizeram uso de mais artifícios para contornar a situação adversa a sua zona de conforto, propiciando com que mantivesse o equilíbrio de suas funções fisiológicas.

Tabela 2 – Dados de temperatura e umidade da ala dos reprodutores com infecção crônica para o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) nos diferentes períodos do dia.

	Temperatura (°C)				Umidade (%)			
	Brando	Médio I	Crítico	Médio II	Brando	Médio I	Crítico	Médio II
Julho	24,21 ± 1,06	24,74 ± 2,32	32,04 ± 2,17	28,63 ± 2,84	87,15 ± 8,93	86,31 ± 10,21	54,21 ± 12,55	67,26 ± 15,9
Agosto	25,21 ± 0,96	26,25 ± 2,56	34,75 ± 1,71	30,58 ± 3,12	78,59 ± 4,88	75,26 ± 11,08	40,50 ± 6,04	53,40 ± 13,31
Setembro	25,42 ± 0,76	27,11 ± 2,73	36,02 ± 2,27	30,48 ± 3,36	76,90 ± 5,19	68,87 ± 12,47	36,02 ± 2,27	53,73 ± 13,21
Outubro	25,43 ± 0,71	27,21 ± 3,00	36,47 ± 1,67	30,36 ± 3,24	76,98 ± 4,96	69,38 ± 13,21	36,47 ± 1,67	53,96 ± 12,10
Novembro	25,41 ± 0,80	27,10 ± 2,71	35,06 ± 2,04	29,83 ± 3,05	79,62 ± 5,95	73,90 ± 12,46	42,10 ± 8,00	58,35 ± 12,67
Dezembro	25,45 ± 0,77	26,64 ± 2,61	34,80 ± 2,53	30,08 ± 2,97	81,47 ± 6,16	75,54 ± 12,38	43,87 ± 11,38	58,51 ± 12,21
Janeiro	25,35 ± 0,97	26,32 ± 2,22	33,09 ± 2,95	28,54 ± 3,18	87,76 ± 7,22	84,73 ± 11,46	54,06 ± 14,47	70,15 ± 15,84
Fevereiro	25,20 ± 0,86	26,00 ± 2,10	32,01 ± 2,83	28,05 ± 2,85	91,95 ± 6,04	90,00 ± 9,93	64,14 ± 14,5	78,2 ± 14,88
Março	25,02 ± 0,78	25,71 ± 1,87	31,54 ± 2,37	27,31 ± 2,27	96,17 ± 3,95	94,04 ± 7,36	69,84 ± 11,92	85,63 ± 12,18
Período	25,18 ± 0,94	26,34 ± 2,59	33,99 ± 2,85	29,33 ± 3,21	84,07 ± 8,71	79,96 ± 14,17	48,83 ± 15,70	64,26 ± 17,55
Total								

Períodos do dia: (brando – das 22hs00 às 03hs59; médio I – das 04hs00 às 09hs59; crítico – das 10hs00 às 15hs59; médio II – 16hs00 às 21hs59).

Os parâmetros fisiológicos temperatura retal (TR), frequência respiratória (FR), frequência cardíaca (FC) e temperatura superficial (TS) dos reprodutores caprinos antes da infecção e dos com infecção crônica estão expressos na tabela 3.

Tabela 3 – Média dos parâmetros fisiológicos de reprodutores caprinos pré-infecção e com infecção crônica para o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV), nos meses de julho a setembro, em Sobral, CE.

	Grupos	
	Pré-Infecção	Infecção crônica
Temperatura Retal (°C)	38,98 ± 0,39a	38,53 ± 0,34b
Frequência Respiratória (mov./min.)	67,03 ± 18,47a	71,07 ± 18,85a
Frequência Cardíaca (bat./min.)	107,87 ± 12,88a	95,83 ± 13,39b
Temperatura Superficial (°C)	31,53 ± 1,81b	32,65 ± 0,97a

Valores seguidos de letras iguais na mesma linha não apresentam diferença estatística pelo Teste de Turkey a 5% de significância.

Com a análise de variância verificou-se diferença significativa ($p < 0,05$) ao comparar as médias de TR, FC e TC entre os dois grupos experimentais, enquanto que a FR não diferenciou entre os grupos a serem avaliados ($p > 0,05$).

Em ambos os grupos a TR permaneceu dentro dos limites fisiológicos de 38,5 a 39,7 °C para caprinos (PEREIRA et al., 2011) e similar aos resultados demonstrados por Silva et al., (2005), Santos et al., (2005) e Silva et al., (2010) que trabalhando com caprinos no semiárido nordestino encontraram média de TR variando de 38,9 a 39,3 °C, 39,3 a 39,7 °C e de 38,8 a 39,3 °C, respectivamente. Esta situação significa que os reprodutores, mesmo aqueles com infecção crônica do CAEV não se encontravam em estresse térmico ao levar em consideração unicamente a TR, estando assim adaptados ao ambiente e indicando que a CAE não altera o sistema adaptativo e o comportamento fisiológico do animal acometido pela enfermidade.

As maiores médias de TR foram evidenciadas no grupo de reprodutores não infectados com o CAEV, possivelmente isso tenha ocorrido em função desses animais terem usado mais de seus mecanismos de termorregulação e estocado mais calor, bem como terem sofrido mais as interferências das variações ambientais, pois segundo Souza et al., (2008) a TR, é uma das variáveis fisiológicas que mais sofre influência da temperatura ambiente.

Com relação à FR, nesse trabalho não encontrou-se diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos avaliados, porém apresentou-se fora da normalidade que, de acordo com Martins Júnior et al., (2007), é de 15 movimentos respiratórios por minuto com variação de 12 a 25 mov./min, sugerindo que em determinados momentos os animais sofreram desconforto térmico e fizeram mais uso desse parâmetro para efetuar a troca de calor com o ambiente e manter a homeotermia. Essa situação corrobora com Silva & Araújo (2000), Martins Júnior et al., (2007) e Gomes et al., (2008) que afirmam justamente isso, que a FR é o mecanismo fisiológico geralmente escolhido pelos animais para efetuar a atividade termorreguladora sob estas situações, via evapotranspiração pulmonar, mantendo por consequência, a homeotermia. Mas deve-se ressaltar que quando esse parâmetro fisiológico se mantém elevado por várias horas pode acarretar inúmeros problemas aos animais, uma vez que causaria desvio de energia, que poderia estar sendo utilizada em outros processos metabólicos e produtivos (SOUZA et al., 2005), e no caso específico de reprodutores caprinos, na interferência negativa em seu desempenho reprodutivo.

Os valores de FR encontrados nesse trabalho são menores que os encontrados para caprinos por Pereira et al., (2011) de 94,46 mov./min. e maiores que os resultados de Souza et al., (2008), Souza et al., (2011) e Lucena et al., (2013) os quais encontraram

respectivamente 51,4 mov./min., 61,03 mov./min e 52,9 mov./min. de FR. A divergência dos valores se dá por conta da característica do parâmetro avaliado que trata-se de uma variável influenciada pelo trabalho muscular, temperatura ambiente, idade e tamanho dos animais.

Já a FC encontrou-se dentro dos padrões descritas por Fraser (1996), cuja média da frequência cardíaca para caprinos é de 90 bat./min. ocorrendo variações de 70 a 120 bat./min., mas com diferença significativa ($p < 0,05$) ao comparar os reprodutores não acometidos com os que apresentam infecção crônica, sendo que nesses últimos evidenciaram-se os menores valores de FC. Os valores de FC deste estudo são maiores que os verificados por Santos et al., (2005) que variaram de 74,06 a 95,39 bat./min. ao estudarem a adaptação de diferentes raças ao Nordeste brasileiro e menores na comparação com os achados de Souza et al., (2005) de 127, 96 bat./min. no período da manhã. Essa discrepância de valores na literatura deve-se muito às diferenças de condições no ambiente em que são obtidas, causando efeito diferenciado e interferência no parâmetro a ser mensurado.

A TS em ambos os grupos apresentou-se dentro dos valores descritos na literatura para caprinos que varia de 27,87 a 38,46 °C (SOUZA et al., 2008; SILVA et al., 2010; SOUZA et al., 2011) e diferenciou significativamente ($p < 0,05$) entre os grupos sujeitos a avaliação, vindo o grupo de animais com infecção crônica denotar a maior média. O fato de não haver valores bem estabelecidos para a espécie caprina, esta pode ser atribuída ao meio de como se obtém esse parâmetro, uma vez que a temperatura da pele não assume caráter uniforme (MAIA et al., 2005), devendo-se nesse caso adotar o cálculo proposto por McLean et al., (1983) que calculavam a temperatura superficial média a partir de múltiplas medidas em pontos diferentes do corpo animal, vindo a estimar a variação de calor. No entanto, esta metodologia não foi adotada nesse trabalho o que explica possíveis divergências com outros resultados da literatura, apesar de ter se deparado dentro dos valores encontrados na mesma.

Conforme Heath et al., (2001) a sensação de conforto e/ou de estresse do animal é melhor avaliada pela temperatura da pele. Com base nessa premissa, pode-se inferir que os animais com infecção crônica por apresentar uma maior TC estavam propensos a um desconforto que propiciou com que tivessem que responder mais às alterações do ambiente, podendo até mesmo favorecer a evolução da doença em detrimento da redução da imunidade devido à situação de estresse térmico.

Na tabela 4 estão expressos os parâmetros fisiológicos avaliados (TR, FR, FC e TS) dos mesmos reprodutores caprinos, porém agora submetidos à infecção recente com o CAEV, e dos reprodutores com infecção crônica.

Tabela 4 – Parâmetros fisiológicos de reprodutores caprinos com infecção recente e reprodutores com infecção crônica para o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV), nos meses de setembro de 2013 a março de 2014, em Sobral, CE.

	Grupos	
	Infecção recente	Infecção crônica
Temperatura Retal (°C)	38,74 ± 0,53a	38,18 ± 0,58b
Frequência Respiratória (mov./min.)	59,72 ± 12,91b	64,86 ± 15,26a
Frequência Cardíaca (bat./min.)	87,07 ± 11,62a	89,97 ± 14,32a
Temperatura Superficial (°C)	31,84 ± 1,16a	32,10 ± 1,18a

Valores seguidos de letras iguais na mesma linha não apresentam diferença estatística pelo Teste de Turkey a 5% de significância.

Ao comparar os dois grupos experimentais (infecção recente e infecção crônica) pode se notar que a diferença significativa ($p < 0,05$) para a variável TR manteve-se após a realização da infecção com o vírus e que mesmo assim os valores encontrados ainda se encontram dentro da normalidade para a espécie. Já a FR que antes da infecção não apresentava diferença significativa ($p > 0,05$) após a infecção essa veio a diferenciar significativamente ($p < 0,05$), no qual o grupo de animais com infecção crônica apresentou maiores índices de FR, mas ainda dentro dos padrões recomendados para caprinos. Essa variável ainda sofreu uma redução de valores em relação aos índices encontrados antes de ser realizada a infecção. Efeito semelhante ocorreu com a FC que teve seus valores reduzidos, corroborando com a afirmação de Lucena et al., (2013) que declaram que a FR e a FC constituem em caprinos, as variáveis que mais são afetadas quando há ocorrência de algum tipo de estresse térmico, quando avaliaram as respostas fisiológicas de caprinos nativos sadios mantidos em temperatura termoneutra e estresse térmico. Com a redução da FC, diferente de antes da infecção esse parâmetro não mais se diferencia ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais, porém continua dentro dos índices habituais para a espécie. Com a TS após a infecção não se detectou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos avaliados, apesar dos reprodutores com infecção crônica ter permanecido com valores superiores.

A referida situação confirma que reprodutores caprinos, independentemente do tipo de infecção, mantêm os parâmetros fisiológicos normais sem alteração do grau de

adaptação ao semiárido nordestino, tendo em vista que apesar de estarem com o vírus da CAE em seu organismo os mesmos não precisaram utilizar de maneira severa seus mecanismos termorreguladores. Tais resultados coincidem com os relatados por Paula et al., (2008) ao estudarem os parâmetros clínicos e hematológicos de reprodutores caprinos infectados naturalmente pelo CAEV durante a transição da estação seca para chuvosa no Ceará, em que também não observaram alteração nos quesitos adaptativos em função da enfermidade. Mas ressalva que isso não reflete e nem minimiza as perdas que a doença acarreta dentro de um rebanho, mesmo não prejudicando o nível de adaptação ao ambiente por parte do animal.

Atualmente, além da avaliação dos parâmetros fisiológicos utiliza-se também dos parâmetros hematológicos como ferramenta útil na indicação de estresse calórico, bem como serve ainda para avaliar a saúde do animal, devido a variações quantitativas dos componentes do sangue (ROBERTO et al., 2010). Na tabela 5 estão demonstrados os parâmetros hematológicos avaliados tanto nos reprodutores pré-infecção quanto nos acometidos cronicamente pela CAE. Com base no exposto a seguir, se observa que não houve diferença em nível de significância de 5% ($p>0,05$) para as variáveis avaliadas entre os dois grupos do estudo. Os mesmos ainda se deparam incluso nos padrões recomendados para caprinos que, de acordo com Jain (1993), Saunders (1999) e Kramer (2006) delimitam os valores hematológicos normais sendo: hemácias de 8 a 18 x 10⁶/ml; hemoglobina de 8 a 12 g/dL, hematócrito de 22 a 38%, leucócitos de 4 – 13 x 10³/ml volume corpuscular médio (VCM) de 15 a 25 μ^3 , hemoglobina corpuscular média (HCM) de 5,2 A 8,0 pg e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de 30 a 36%. Esses dados sugerem que os animais acometidos pela CAE podem apresentar seus parâmetros hematológicos similares a animais não acometidos, uma vez que os valores desse estudo ainda se encontram em consonância com outros vistos na literatura (SILVA et al., 2006; PAULA et al., 2008; LUZ et al., 2010).

Tabela 5 – Parâmetros hematológicos de reprodutores caprinos pré-infecção e com infecção crônica para o Vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV), nos meses de julho a setembro, em Sobral, CE.

	Grupos	
	Pré-Infecção	Infecção crônica
Hematócrito (%)	30,50 ± 3,54a	30,50 ± 3,57a
Hemoglobina (g/dL)	9,79 ± 1,03a	9,72 ± 1,38a
Leucócitos (10 ³ /mL)	11,22 ± 4,39a	12,05 ± 3,58a
Hemácias (10 ⁶ /ml)	16,83 ± 1,37a	16,43 ± 1,69a
VCM (μ ³)	18,23 ± 1,56a	18,31 ± 1,15a
HCM (pg)	5,75 ± 0,17a	5,76 ± 0,39a
VHCM (%)	31,89 ± 2,58a	31,64 ± 1,88a

Valores seguidos de letras iguais na mesma linha não apresentam diferença estatística pelo Teste de Turkey a 5% de significância.

A tabela 6 ao realizar a comparação dos animais com infecção crônica com os de infecção recente observa-se que os valores se encontram dentro dos de referência para a espécie (JAIN, 1993; SAUNDERS, 1999; KRAMER, 2006), mas ocorrendo diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos para os parâmetros: hematócrito, hemoglobina, VCM e HCM.

Os reprodutores com infecção crônica apresentaram valores maiores de hematócrito e de hemoglobina que os do grupo da infecção recente. Viana et al., (2002) afirmam que os constituintes sanguíneos são passíveis de sofrerem alteração em função do ambiente, assim como Swenson & Reece (1996) descrevem a perda de líquido por parte do animal via pele e /ou aparelho respiratório decorrente de elevações de temperatura que implica justamente na redução do volume plasmático seguido de elevadas concentrações no hematócrito.

Tabela 6 – Parâmetros hematológicos de reprodutores caprinos com infecção recente e com infecção crônica para o Vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) nos meses de setembro de 2013 a março de 2014, em Sobral, CE.

	Grupos	
	Infecção recente	Infecção crônica
Hematócrito (%)	28,81 ± 2,65b	30,92 ± 2,87a
Hemoglobina (g/d)	9,39 ± 0,86b	10,03 ± 1,26a
Leucócitos (10 ³ /mL)	10,61 ± 5,20a	11,11 ± 4,69a
Hemácias (10 ⁶ /ml)	16,21 ± 1,3a	16,58 ± 2,53a
VCM (μ ³)	17,85 ± 0,95b	18,32 ± 1,00a
HCM (pg)	5,72 ± 0,16b	5,89 ± 0,37a
VHCM (%)	32,27 ± 1,52a	32,28 ± 2,13a

Valores seguidos de letras iguais na mesma linha não apresentam diferença estatística pelo Teste de Turkey a 5% de significância.

No que diz respeito ao comportamento reprodutivo dos animais antes da infecção em comparação aos com infecção crônica para a CAE (tabela 7) não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para a variável tempo de reação (TRç).

O tempo encontrado nessa pesquisa para o grupo de machos antes da infecção foi maior aos achados por Santos et al., (2006) que variou de 25,7 a 28,6 segundos, quando trabalharam com machos caprinos da raça Alpina e Saanen, porém o tempo do grupo com infecção crônica foi menor ao estabelecido por esses autores (48,8 a 75,5 seg.) para machos caprinos das referidas raças.

Tabela 7 - Características comportamentais de reprodutores caprinos pré- infecção e infecção crônica para o Vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) nos meses de julho a setembro, em Sobral, CE.

	Grupos	
	Pré-Infecção	Infecção crônica
Tempo de Reação (seg.)	32,32 ± 31,68a	25,22 ± 13,71a
Ocorre Cortejo (%)	80,76	92,85
Relação Homem/Animal	Não apresentou receio	Não apresentou receio
Número de Saltos	1,23 ± 0,51a	1,06 ± 0,26b

Valores seguidos de letras iguais na mesma linha não apresentam diferença estatística pelo Teste de Turkey a 5% de significância.

Analisando ainda a tabela 7, verifica-se um maior percentual de ocorrência de cortejo por parte dos reprodutores com infecção crônica e mais acostumados a coleta de

sêmen, estando em perfeita concordância com os trabalhos de Santos et al., (2006) que detectaram que machos experientes tendem a apresentar maior manifestação de cortejo, possivelmente isso ocorra por se tratar de animais mais condicionados a coleta de sêmen que optam por testar a receptividade da fêmea ao invés de se realizar diretamente a monta. No entanto, Machado et al. (1994) observaram há diferenças individuais no desempenho sexual de caprinos, assim com também entre raças.

Não foi notado ao longo de todo período experimental qualquer tipo de receio dos animais à presença do ser humano na sala de coleta de sêmen. Entretanto, o número de saltos entre os grupos avaliados diferiu significativamente ($p < 0,05$), vindo os animais pré-infecção exercerem um maior número de saltos até a ocorrência da ejaculação, acontecendo justamente por conta de sua menor experiência.

Na avaliação do comportamento reprodutivo dos machos caprinos após a realização da infecção em comparação aos acometidos cronicamente pela CAE (tabela 8), observa-se comportamento similar ao relatado anteriormente, o que demonstra que o vírus não interferiu acentuadamente no comportamento reprodutivo dos animais. Porém, o tempo de reação tendeu a se elevar, em ambos os grupos, mas sem diferença significativa entre eles ($p > 0,05$), bem como apresentaram o mesmo percentual de ocorrência de cortejo, justificado pelo fato dos reprodutores com infecção recente já se encontravam mais adaptados à rotina de coleta e à presença da fêmea, embora o número de saltos tenha se mantido ainda elevado e diferindo significativamente ($p < 0,05$) em comparação aos machos cronicamente infectados pelo CAEV.

Tabela 8 – Características comportamentais de reprodutores caprinos com infecção recente e com infecção crônica para o Vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) nos meses de setembro de 2013 a março de 2014, em Sobral, CE.

	Grupos	
	Infecção recente	Infecção crônica
Tempo de Reação (seg.)	37,28 ± 46,72a	38,67 ± 34,83a
Ocorre Cortejo (%)	94,92	94,92
Relação Homem/Animal	Não apresentou receio	Não apresentou receio
Número de Saltos	1,20 ± 0,37a	1,06 ± 0,26b

Valores seguidos de letras iguais na mesma linha não apresentam diferença estatística pelo Teste de Turkey a 5% de significância.

O interesse pela fêmea também foi um parâmetro útil na avaliação do comportamento sexual dos reprodutores com infecção recente com os de infecção

crônica para CAE (tabela 9). Verifica-se que, de um modo geral, os animais apresentaram performances semelhantes com uma leve vantagem para os com infecção recente dos quais advieram maiores percentuais de interesse classificado como ótimo. Possivelmente isso se deu devido à idade desses animais, tendo em vista a um maior estado de estímulo sexual do jovem quando à frente com uma fêmea de sua espécie em situação de estro.

Tabela 9 – Interesse pela fêmea de reprodutores caprinos com infecção recente e com infecção crônica para o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) nos meses de setembro de 2013 a março de 2014, em Sobral, CE.

	Grupos	
	Infecção recente (%)	Infecção crônica (%)
Ótimo	36,95	21,73
Bom	28,98	23,91
Médio	9,42	34,78
Ruim	24,65	19,55

Os dados ambientais de temperatura e umidade obtidos na sala de coleta durante a avaliação do comportamento reprodutivo dos grupos de animais experimentais podem ser visualizadas na tabela 10.

Tabela 10 – Dados de temperatura e umidade da sala de coleta de sêmen ao longo dos meses considerando apenas os dias e o horário (8hs00 as 10hs00) de avaliação comportamental e de coleta de sêmen.

	Temperatura (°C)	Umidade (%)
Julho	26,25 ± 1,38	81,5 ± 7,28
Agosto	27,65 ± 1,96	68,13 ± 8,89
Setembro	28,27 ± 1,46	63,84 ± 8,49
Outubro	29,12 ± 1,70	57,77 ± 8,88
Novembro	28,51 ± 1,37	66,17 ± 8,42
Dezembro	26,95 ± 1,72	77,18 ± 10,56
Janeiro	26,97 ± 1,49	81,26 ± 10,09
Fevereiro	26,85 ± 1,31	82,54 ± 8,48
Março	26,17 ± 1,41	87,71 ± 6,35
Período Total	27,40 ± 1,82	74,23 ± 13,19

Observa-se que a temperatura ambiente permaneceu dentro dos limites preconizados para caprinos (20 a 30 °C - BAÊTA & SOUZA, 1997), indicando que no momento da avaliação os reprodutores se achavam dentro da sua zona de

termoneutralidade não tendo seu desempenho reprodutivo prejudicado por questões ambientais. No que tange a umidade relativa em alguns meses essa não ficou dentro do ideal para caprinos (40-70 % - BAÊTA & SOUZA, 1997), mas acredita-se que sem prejudicar a performance do animal ou a confiabilidade dos resultados desse estudo.

Todos os animais inoculados com o CAEV-Cork, soroconverteram após a terceira semana. Apenas dois animais apresentaram problemas articulares durante o experimento com valor acima do normal para a espécie conforme classificação de Pinheiro et al., (2005). Um macho da Raça Anglo Nubiana de 4 anos, com infecção crônica apresentou aumento do IAC (de 6 a 8), a partir de dois meses do início do projeto e manifestou sintomas de dor nas articulações, causando, em determinado momento, dificuldade em efetuar monta, confirmando a afirmação de Andrioli, (2001) que reprodutores com graves problemas articulares podem vir a ser potencialmente incapazes de serem usados na atividade reprodutiva, principalmente se acometido pela CAE, enfermidade caracterizada justamente por problemas articulares. O animal com dor articular foi tratado com analgésicos e antiinflamatórios, e melhorou o seu comportamento reprodutivo. O outro animal foi um Saanen, com 2 anos de idade, do grupo com infecção recente, sendo que os valores de IAC eram em média 5,5 antes da infecção e após dois meses o IAC aumentou para 7,5, indicando problema articular, porém sem sintoma de dor. Nenhum outro sintoma da CAE foi observado nos animais durante todo o período experimental.

CONCLUSÕES

Assim, pode-se concluir que o CAEV não interferiu nos parâmetros fisiológicos, hematológicos e comportamentais de reprodutores caprinos, independente do tempo de infecção do CAEV, mantendo os parâmetros avaliados dentro dos padrões de referência para a espécie.

A CAE não altera o padrão de comportamento sexual, porém quando os animais apresentam artrite há um quadro de dor e desconforto, afetando o comportamento sexual e comprometendo o bem-estar do reprodutor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRIOLI, A. **Vírus da artrite encefalite caprina: PCR e isolamento em amostras de sêmen, fluido uterino e embriões.** 2001. 68 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.
- BAÊTA, F.C.; SOUZA, C.F. **Ambiência em edificações rurais conforto térmico.** Viçosa, UFV. Universidade de Viçosa. 1997. 246p.
- BRASIL, L.H.A.; WECHESLER, F.S.; BACCARI JR., F.; et al. Efeitos do Estresse Térmico Sobre a Produção, Composição Química do Leite e Respostas Termorreguladoras de Cabras da Raça Alpina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.6, p. 1632-1641,2000.
- COSTA E SILVA, E.V.; RUEDA, P.M.;CARNEIRO, R.C.P.B.; et al. Estratégias para avaliar bem-estar animal em animais em reprodução. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOÉTICA E BEM ESTAR ANIMAL, 2., 2010. Belo Horizonte. **Anais...**Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2010 (Resumo).
- DIFRAY, B. C.; MCKENZIE, D.; WOLF, C.; et al. Abordagem e exame de ovinos e caprinos. In: **PUGH, D.G. (Ed.). Clínica de ovinos e caprinos.** São Paulo: Roca, 2005. Cap. 1, p. 1-19.
- FERREIRA, M.A.; SILVA, F.M.; BISPO, S.V.; et al. Estratégias na suplementação de vacas leiteiras no semiárido do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.322-329, 2009.
- FRASER, C.M. **Manual merck de veterinária: Um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário.** São Paulo: Roca, 1996, 169 p.
- GOMES, C.A.V.; FURTADO, D.A.; MEDEIROS, A.N.; et al. Efeito do ambiente térmico e níveis de suplementação nos parâmetros fisiológicos de caprinos Moxotó. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.2, p.213–219, 2008.
- GUEDES, M. I. M. C. **Infecção Experimental pelo vírus da artrite encefalite caprina em cabritos de nove a vinte e sete dias de idade.** 1999. 59f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária - Área de Patologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- HEATH, A.M.; NAVARRE, C.B.; SIMPKINS, A.; et al. A comparison of surface and rectal temperatures between sheared and non-sheared alpacas (Lama pacos). **Small Ruminant Research**, v. 39, p. 9-23, 2001.
- JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology.** Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417 p.

- KADZERE, M.R.; MURPHY, N.; SILANIKOVE, E.; et al. Heat stress in lactating dairy cows: a review. **Livestock Production Science**, v.77, p. 59-91, 2002.
- KRAMER J.W. 2006. Normal hematology of cattle, sheep and goats, p.1075-1084. In: **Feldman B.F., Zinkl J.G. & Jain N.C. (Eds), Schalm's Veterinary Hematology**. 5th ed. Williams and Wilkins, Philadelphia.
- LUCENA, L.F.A.; FURTADO, D.A.; NASCIMENTO, J.W.B.; et al. Respostas fisiológicas de caprinos nativos mantidos em temperatura termoneutra e em estresse térmico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.6, p.672-679, 2013.
- LUZ, D.O.; LACERDA, R.M.; BARRETO JÚNIOR, R.A.; et al. Eritrograma e variantes de hemoglobina em caprinos da raça Canindé. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.1, p.208-210, 2010.
- MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A; PINHEIRO, A. Testes objetivos do comportamento sexual do bode. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 18, n.1-2, p.19-30, 1994.
- MAIA, A.S.C.; SILVA, R.G.; LOUREIRO, C.M.B. Sensible and latente heat loss from the body surface of Holstein cows in a tropical environment. **International Journal of Biometeorology**, v.50, p.17-22, 2005.
- MCLEAN, J.A.; DOWNIE, A.J.; WATTS, P.R.; GLASBEY, C.A. Thermal adjustment of steers (*Bos Taurus*) to abrupt changes in environmental temperature. **The Journal of Agricultural Science**, v.100, p.305-314, 1983.
- MARTINS JÚNIOR, L.M.; COSTA, A.P.R.; AZÊVEDO, D.M.M.R.; et al. Adaptabilidade de caprinos Boer e Anglo-Nubiana às condições climáticas do meio-norte do Brasil. **Archivos de Zootecnia**, v.56, n. 214, p. 103-113, 2007.
- MILLER, A. *Meteorology*. 2ª ed. Columbia, Ohio: Charles E. Merrill Publishing Company, 1971. 154p.
- PAES, P.R.; BAIRONI, G.; FONTEQUE, J.R. Comparação dos valores hematológicos entre caprinos fêmeas da raça Parda Alpina de diferentes faixas etárias. **Veterinária Notícias**, v.6, n.1, p. 43-49, 2000.
- PAULA, N.R.O.; ANDRIOLI, A.; CARDOSO, J.F.S.; et al. Parâmetros clínicos e hematológicos de reprodutores caprinos infectados naturalmente pelo vírus da Artrite Encefalite Caprina durante a transição da estação seca para chuvosa no Ceará. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.75, n.2, p.141-147, abr./jun., 2008.
- PEREIRA, G.M.; SOUZA, B.B.; SILVA, A.M.A.; et al. Avaliação do comportamento fisiológico de caprinos da raça Saanen no semiárido paraibano. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.6, n.1, p. 83 – 88, 2011.

- PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F.; et al. Medidas carpometacarpianas como índice articular clínico em caprinos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.27, n.4, p.170-173, 2005.
- PINHEIRO, A.A. BRITO, I.F. **Bem estar e produção animal**. Sobral: EMBRAPA Caprinos e Ovinos, 2009. 27p. (EMBRAPA-CNPACO. Documentos, 97).
- REED, L.J.; MUENCH, H. A simple method of estimating fifty percent end points. **American Journal of Hygiene**, v. 27, n. 3, p. 493-497, 1938.
- ROBERTO, J.V.B.; SOUZA, B.B.; SILVA, A.L.N.; et al. Parâmetros hematológicos de caprinos de corte submetidos a diferentes níveis de suplementação no semiárido paraibano. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 1, p. 127-142, 2010.
- SANTOS, F.C.B.; SOUZA, B.B.; ALFARO, C.E.P.; et al. Adaptabilidade de caprinos exóticos e naturalizados ao clima semiárido do Nordeste brasileiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 142-149, 2005.
- SANTOS, A.D.F.; TORRES, C.A.A.; FONSECA, J.F.; et al. Parâmetros reprodutivos de bodes submetidos ao manejo de fotoperíodo artificial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.1926-1933, 2006.
- SAUNDERS. W. B. **Comprehensive Veterinary Dictionary**. D.C. Blood, V. P. Studdert. 2ª Edição, 1999.
- SILVA, F.L.R.; ARAÚJO, A.M. Desempenho produtivo em caprinos mestiços no semiárido do Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p. 1028-1035, 2000.
- SILVA, G.A.; SOUZA, B.B.; ALFARO, C.E.P.; et al. Efeito das épocas do ano e de turno sobre os parâmetros fisiológicos e seminais de caprinos no semiárido paraibano. **Agropecuária Científica do Semiárido**, v.01, 07-14, 2005.
- SILVA, G.A.; SOUZA, B.B.; ALFARO, C.E.P.; et al. Efeito da época do ano e período do dia sobre os parâmetros fisiológicos de reprodutores caprinos no semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.10, n.4, p.903-909, 2006.
- SILVA, E.M.N.; SOUZA, B.B.; SILVA, G.A. Parâmetros fisiológicos e hematológicos de caprinos em função da adaptabilidade ao semiárido. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v.06, n 03, p. 01 - 06, 2010.
- SOUZA, E.D.; SOUZA, B.B.; SOUZA, W.H.; et al. Determinação dos parâmetros fisiológicos e gradiente térmico de diferentes grupos genéticos de caprinos no semiárido. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 1, p. 177-184, 2005.
- SOUZA, B.B.; SOUZA, E.D.; SILVA, R.M.N.; CEZAR, M.F.; SANTOS, J.R.S.; SILVA, G.A. Respostas fisiológicas de caprinos de diferentes grupos genéticos no semiárido paraibano. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.1, p. 314-320, 2008.

SOUZA, B.B.; ASSIS, D.Y.C.; SILVA NETO, F.L.; ROBERTO, J.V.B.; MARQUES, B.A.A. Efeito do clima e da dieta sobre os parâmetros fisiológicos e hematológicos de cabras da raça saanen em confinamento no sertão paraibano. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.6, n.1, p. 77 – 82, 2011.

SOUZA, P.T.; SALLES, M.G.F.; ARAÚJO, A.A. Impacto do estresse térmico sobre a fisiologia, reprodução e produção de caprinos. **Ciência Rural**, v.42, n.10, p. 1888-1895, 2012.

SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes Fisiologia dos animais domésticos**. 11 ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro; 1996, 856 p.

VIANA, R. B.; BIRGEL JÚNIOR, E.H.; AYRES, M.C.C.; et al. Influência da gestação e do puerpério sobre o leucograma de caprinos da raça Saanen, criados no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 39, n. 4, p. 196-201, 2002.

CAPÍTULO 3

**AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE *WESTERN BLOTTING* (WB) NO
PLASMA SEMINAL DE REPRODUTORES CAPRINOS PORTADORES
DO VÍRUS DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA (CAEV)**

**EVALUATION OF *WESTERN BLOTTING* (WB) IN PLASMA SEMINAL
OF GOATS INFECTED BY CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS
VIRUS (CAEV)**

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi analisar a técnica de *Western Blotting* em amostras de plasma seminal na detecção de anticorpos anti-CAEV em comparação às amostras de soro sanguíneo de reprodutores com infecção recente ou crônica. Para isso, foram selecionados 12 reprodutores caprinos de diferentes raças, hígido e mantidos durante todo o período experimental (270 dias) sob regime intensivo. Os machos tinham de três a quatro anos de idade, e foram selecionados com base no quadro sorológico para o CAEV, sendo seis soropositivos (com infecção natural crônica há mais de 12 meses) e seis soronegativos. Os animais foram divididos inicialmente em dois grupos: machos com infecção crônica e machos pré-infecção. Após 90 dias do início do experimento, os seis machos pré-infecção foram inoculados com a cepa viral CAEV-Cork, título $10^{5,6}$ TCID₅₀/mL, por via intravenosa. A partir da inoculação viral o grupo pré-infecção passou a ser denominado de grupo com infecção recente e foram acompanhados, semanalmente, por testes de WB no sangue e plasma seminal, juntamente com os animais com infecção crônica, durante 180 dias. As coletas de sêmen foram feitas por vagina artificial, seguida de espermograma. Todos os animais inoculados com o CAEV-Cork, soroconverteram após a terceira semana. Os reprodutores, dos dois grupos experimentais, apresentaram os parâmetros de concentração, motilidade e vigor, dentro dos padrões recomendados pelo CBRA (2013), não havendo, entre os grupos, diferença estatística significativa ($p > 0,05$). No entanto, o volume seminal dos reprodutores que foram infectados, tanto pré-infecção quanto pós-infecção, foi significativamente menor ($P < 0,05$) que os machos com infecção crônica. Concluiu-se que o CAEV não interfere nos parâmetros seminais de reprodutores e que animais com infecção recente apresentam maior porcentagem de resultados positivos no *Western Blotting*, tanto no plasma seminal como no soro sanguíneo, do que os animais com infecção crônica, consolidando a importância do diagnóstico precoce do CAEV. Já o diagnóstico de WB em amostras de soro sanguíneo é mais eficiente do que de plasma seminal, independente do tempo de infecção. No entanto, é uma alternativa válida de diagnóstico do CAEV.

Palavras –chave: anticorpos, CAEV, caprino, diagnóstico, espermograma.

ABSTRAT

The objective of this study was to analyze the technique of Western Blotting in samples of seminal plasma in the detection of anti-CAEV antibodies compared to blood samples from males with recent or chronic infection. For this, 12 bucks were selected from different races, healthy and with maintained throughout the experimental period (270 days) under intensive conditions. Males of three to four years of age, and were selected based on serological framework for CAEV, six seropositive (with chronic natural infection for more than 12 months) and six seronegative. The animals were divided initially into two groups: males with chronic infections and pre-infection males. 90 days after the beginning of the experiment, six male pre-infection were inoculated with the viral strain CAEV-Cork title TCID₅₀/mL 10^{5.6} intravenously. From the viral inoculation pre-infection group came to be named the group with recent infection and were monitored weekly for blood and seminal plasma WB tests, along with the animals with chronic infection, during 180 days. The semen collections were made by artificial vagina, followed by semen analysis. All animals inoculated with CAEV-Cork, seroconverted after the third week. The breeders of the two experimental groups presented the parameters of concentration, motility and vigor within recommended by CBRA (2013) standards, with no between groups, a statistically significant difference ($p > 0.05$). However, the seminal volume of breeders which were infected, both pre-infection and post-infection was significantly lower ($p < 0.05$) than males with chronic infection. It was concluded that the CAEV does not interfere with seminal parameters and breeding animals with recent infection have a higher percentage of positive results in Western blotting, both in seminal plasma and blood serum than animals with chronic infection, consolidating the importance of early diagnosis of CAEV. Since the diagnosis of WB in blood serum samples is more efficient than seminal plasma, regardless of the time of infection. However, it is a valid alternative for the diagnosis of CAEV.

Keywords: antibodies, CAEV, goats, diagnosis, spermogram.

INTRODUÇÃO

A artrite encefalite caprina (CAE) é uma das enfermidades infectocontagiosas que mais tem sido responsabilizada, nos últimos anos, pelas perdas econômicas que afetam a caprinocultura. Entretanto, tais perdas são de difícil avaliação pelo fato da CAE ser uma doença crônica de caráter progressivo e lento (BIRGUEL JUNIOR et al., 2007).

A característica principal da patogenia dos lentívirus de pequenos ruminantes está relacionada ao seu tropismo com as células do sistema mononuclear fagocitário (LARA et al., 2013), persistindo por um período de tempo prolongado no interior dos monócitos e macrófagos, indo desde a infecção até os primeiros aparecimentos dos sintomas (ALVES et al., 2012). Ao longo desse período, os animais apresentam-se soropositivos e capazes de transmitir o vírus (OLIVEIRA et al., 2008).

Em virtude da ausência de tratamento ou vacinação como alternativas de controle da disseminação do CAEV (PETERHANS, 2004; GREGORY et al., 2011), a detecção precoce dos animais infectados a fim de separá-los dos demais animais ou até mesmo servir de critério para sua eliminação, passa a ser uma ferramenta importante para reduzir os níveis de dispersão do vírus em um rebanho, além de ser critério determinante para o sucesso dos programas de controle (TORRES et al., 2009). Nessa situação, a realização de diagnóstico laboratorial se torna indispensável para confirmar a soropositividade de um animal, e comumente se opta por técnicas sorológicas, devido a sua praticidade e custo relativamente reduzido quando comparados a outras técnicas laboratoriais (PINHEIRO et al., 2006).

Dentre essas técnicas sorológicas, a Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA) é o principal teste sorológico que a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) preconiza para diagnosticar casos de CAE, por ter aplicação simples e desprever da necessidade de equipamentos e/ou instalações mais elaboradas (OIE, 2004). No entanto, o IDGA é ineficaz para erradicar a CAE de um plantel (SOUZA, 2010).

A técnica *Western Blotting* (WB) vem tendo seu uso crescente para diagnosticar enfermidades infecciosas e cuja sensibilidade e especificidade é comprovadamente melhor em relação a outros testes sorológicos (PINHEIRO, 2001; RODRIGUES et al., 2009; ABREU et al., 2011; MIGUEL et al., 2012; SOUSA, 2013). O WB permite a apreciação em caráter simultâneo, de vários antígenos imunogênicos que porventura estejam aderidos em uma amostra, fato esse que lhe atribui confiabilidade diferenciando

de outros métodos imunquímicos, e o credencia como uma técnica valiosa, e de ampla aplicabilidade (KURIEN & SCOFIELD, 2006).

O emprego da técnica de *Western Blotting* no diagnóstico da CAE apresenta resultados eficazes, aliado a capacidade de detecção sorológica precoce e possibilidade mínima de ocorrência de resultados falso-negativos quando comparado a outros testes (PINHEIRO, 2001).

A utilização da técnica de WB com outras amostras biológicas como o sêmen, assim como relatos da ocorrência do CAEV neste material (ANDRIOLI et al., 1999; AL AHMAD et al., 2008; PETERSON et al., 2008) de reprodutores portadores do vírus sem sintomatologia (PAULA, 2008), aliado a confirmação de transmissão do CAEV pela inseminação artificial (SOUZA et al., 2013), levantou a necessidade de se analisar o *Western Blotting* na detecção de anticorpos contra o CAEV no plasma seminal. Isto possibilitaria selecionar partidas de sêmen de reprodutores caprinos desprovidos do CAEV, e ao mesmo tempo não restringiria a técnica apenas a amostras de soro sanguíneo.

Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a presença de anticorpos contra o CAEV no sêmen pela técnica de *Western Blotting* (WB) no plasma seminal de reprodutores caprinos, com infecção crônica e recente, para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).

MATERIAL E MÉTODOS

Período e Local

O presente estudo foi realizado no período de julho de 2013 a janeiro de 2014, na Embrapa Caprinos e Ovinos, localizada no município de Sobral – CE, a 3° 41'S e 40° 20'W. O clima da região é do tipo BShw', segundo a classificação de Köppen, com estação chuvosa compreendida entre os meses de janeiro e maio e a estação seca entre os meses de junho a dezembro (MILLER, 1971).

Animais Experimentais

Foram utilizados 12 reprodutores caprinos de diferentes raças com idade variando de três a quatro anos, selecionados com base no quadro sorológico para o CAEV, sendo seis soropositivos pelo WB (com infecção natural crônica há mais de 12 meses) e seis soronegativos, obtidos após três testes consecutivos de *Western Blotting* (WB) e de *Nested-PCR* (PCRn) no sangue, com intervalo de 30 dias. Os animais foram divididos inicialmente em dois grupos (negativo e positivo para CAE) com seis animais cada e todos ainda se apresentavam em bom estado de saúde, de acordo com exame clínico geral realizado segundo Diffay et al., (2005). Os mesmos foram mantidos durante todo o período experimental (270 dias) em regime intensivo de produção, alojados em baias coletivas de um aprisco parcialmente coberto localizado com orientação leste/oeste, e sendo sua alimentação ao longo de todo o experimento constituída de concentrado (300 g/animal) e volumoso a base de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) picado e fornecido no cocho, além de água e sal mineral *ad libitum*.

O experimento foi realizado de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, sendo submetido e aprovado no dia 20 de abril de 2012 pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA UVA, recebendo o número de protocolo 010.12

Inoculação Viral

Seis reprodutores selecionados e livres do CAEV pertencentes ao grupo de jovens negativo, após 90 dias de início do experimento foram inoculados com um mililitro de Meio Essencial Mínimo (MEM) contendo a cepa viral CAEV-Cork, título $10^{5,6}$ TCID₅₀/mL, por via intravenosa, e passou-se a denominar de grupo de reprodutores jovens com infecção recente, acompanhados semanalmente por testes de WB até a soroconversão. O preparo do inóculo viral foi realizado no Laboratório de Virologia, segundo Guedes (1999), utilizando-se amostra viral padrão (CAEV-Cork), replicadas em células de membrana sinovial caprina (MSC), e obtidas por explantação. Os sobrenadantes desses cultivos celulares inoculados foram titulados em microplacas, por diluições decimais em MEM com 2% de soro fetal bovino (SFB), usando-se oito repetições (poços) por diluição. Em cada poço distribuiu-se 50µL da diluição viral e, após uma hora de incubação a 37°C em 5% de atmosfera de CO₂, foram adicionados 50µL da suspensão de células de MSC. Aos quatorze dias pós-inoculação, obteve-se o título segundo a técnica de Reed & Muench (1938) e calculada a dose infectante com a titulação viral de $10^{5,6}$ TCID₅₀/mL.

Coleta e Avaliação do Sêmen

Os animais experimentais foram submetidos à coleta artificial de sêmen, semanalmente, por meio de vagina artificial modelo curto (MIES FILHO, 1962), conjugado com o uso de uma fêmea, como manequim, com estro induzido por meio da aplicação de 1 mL de cipionato de estradiol (ECP) aplicado 48 horas antes da coleta de sêmen e imobilizada num tronco, de forma a facilitar a monta e a coleta. Deve-se ressaltar que até os 90 dias de início do experimento (período pré-infecção) primeiramente realizavam-se as coletas do grupo negativo, e posteriormente o do grupo positivo, a fim de evitar qualquer tipo de contaminação pelo CAEV.

À medida que o sêmen era coletado o mesmo era destinado ao Laboratório de Tecnologia de Sêmen para realização do espermograma, onde se quantificaram os seguintes parâmetros: volume (mL), aspecto, concentração espermática ($\times 10^9$ spz/mL), motilidade individual progressiva (MIP, 0-100%), e vigor (0-5) de acordo com os critérios preconizados pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal - CBRA (2013),

sendo os valores devidamente anotados nas fichas de avaliação. Após cada coleta, manteve-se o sêmen em banho-maria a 37 °C e determinou-se o volume do ejaculado, imediatamente, através da graduação do tubo coletor. Em seguida, uma gota de sêmen foi colocada entre lâmina e lamínula pré-aquecida a 37 °C e observada em microscópio óptico com aumento de 10 a 40x, verificou-se a motilidade progressiva retilínea (percentual) e o vigor espermático (escala de 0 a 5). Posteriormente, acrescentaram-se 50 µL do sêmen em 10 mL de solução fisiológica formolizada a 0,1% tamponada, para contagem das células espermáticas, utilizando-se espectofotômetro, e determinação da concentração espermática por mL e no ejaculado total. Realizado o espermograma, o sêmen coletado era colocado em tubos eppendorf[®] de 2,5 mL e submetidos à centrifugação em microcentrífuga refrigerada durante 30 minutos a 1500 Xg para a separação do plasma seminal que logo após era armazenado e estocado também em freezer a -20°C para serem utilizados no teste de WB.

Coleta de Sangue

Após as coletas de sêmen também eram feitas as coletas de sangue por punção da veia jugular utilizando-se sistema vacutainer[®], em tubos de 10 mL sem anticoagulante, os quais em seguida eram centrifugados por 10 minutos à 3000xg, a fim de separar um dos soro o soro sanguíneo que foi devidamente armazenados em tubos eppendorf[®] de 2,5 mL e estocados em freezer a -20 °C para serem utilizados no teste de WB.

Western Blotting - WB

As amostras de soro sanguíneo e plasma seminal foram submetidas ao teste de WB seguindo a metodologia de Rodrigues et al. (2009) adaptada de Pinheiro (2001). É importante ressaltar que a *priori* foi realizado um ensaio piloto usando as seguintes diluições para as amostras de plasma seminal: 1:8, 1:12,5 e 1:25. Realizado esse ensaio piloto, o soro sanguíneo foi diluído à 1:50 e a melhor diluição do plasma seminal foi estabelecida à 1:8. O antígeno utilizado foi produzido no Laboratório de Virologia da Embrapa Caprinos e Ovinos, contendo a proteína p28, que corresponde à proteína da cápside do CAEV. A eletroforese foi feita em gel SDS-PAGE a 12,5%, na qual foi utilizada uma quantidade de 13 µL de antígeno por gel, com concentração de proteína

viral de 4,231 mg/ μ L. A corrida ocorreu em aparelho BIO-RAD modelo Power Pac HC, cuja programação inicial foi de 300 Watts (W), 1,00 Ampères (A) e 170 volts (V) por aproximadamente 60 minutos. Após a separação das bandas de proteínas do CAEV, estas foram transferidas passivamente por pressão do gel para a Membrana de Nitrocelulose (MN) (PROTAN BA 85 is stuck 7,5 x 8,5 cm) com porosidade de 0,45 μ m durante 72 horas.

Em seguida, a MN foi imersa em solução de bloqueio PBS (Na₂HPO₄ 3,54 g e NaH₂PO₄ 1,2 g, pH 7,4) Tween 0,3% por 60 minutos e lavada com solução de PBS-Tween 0,05% por três vezes, durante cinco minutos cada lavagem. Posteriormente realizou-se o corte em tiras, devidamente identificadas e distribuídas em tubos de ensaio de 5 mL, com a mesma identificação com solução de PBS 1X, cada tubo tinha um volume de 2500 μ L de PBS 1X. Aos tubos de ensaio de 5 mL foram adicionados soro e os controles positivo e negativo, na diluição de 1:50, e para o plasma seminal, foi definida a diluição de 1:8, sendo então incubados por 30 minutos. Em seguida, realizaram-se três lavagens com PBS-Tween 0,05% cuja duração foi cinco minutos cada. Após a lavagem colocou-se o conjugado Sigma® (A 5420), imunoglobulina G (IgG) anti-cabra conjugado com peroxidase, diluído em PBS 1X (1:12000) por 60 minutos. Após esse período as tiras de MN foram lavadas duas vezes com PBS-Tween 0,05% e duas vezes com PBS 1X, durante cinco minutos cada, sendo então retiradas dos tubos de ensaio e colocadas em um recipiente. A essas tiras foram adicionados os substratos cromogênicos, 4-Cloro-1-naphthol Sigma® (C-6788) e 3,3' Diaminobenzidine (DAB) Sigma® (D5637-5G), e ainda adicionado Peróxido de Hidrogênio a 30%. A revelação das bandas de proteína ocorreu ao abrigo da luz, entre 30 a 60 segundos e a reação foi cessada com adição de água destilada.

Finalmente Posteriormente, as tiras foram colocadas sobre papel de filtro para que pudessem secar e ser montadas conforme a numeração que cada uma havia recebido, começando pelo controle negativo, depois positivo e assim sucessivamente.

Análise dos Dados

Os resultados dos parâmetros seminais avaliados em ambos os grupos foram expressos por meio de média e desvio padrão. Posteriormente, foram analisados pelos testes de Shapiro-Wilk e Battlet para verificar os pressupostos de normalidade e

homogeneidade das variáveis, respectivamente. Àquelas que não atenderam as condições previamente determinadas se aplicou a transformação logarítima de base 10.

Em seguida, as médias e desvio padrões foram comparadas pelo Teste de Turkey a 5% de significância, entretanto no caso dos dados referentes ao WB utilizou-se do Teste de T de Student à 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto aos parâmetros reprodutivos, na tabela 1, observa-se que não houve diferença estatística ($p>0,05$) na avaliação do espermograma entre os animais dos grupos de reprodutores pré-infecção e com infecção crônica para o CAEV, com relação a concentração, motilidade e vigor, estando dentro dos padrões (concentração: 2×10^9 ; motilidade espermática: 80% e vigor: 3) recomendados pelo CBRA (2013), com exceção apenas do volume do grupo pré-infecção, cujo valor ($0,66\text{mL} \pm 0,35$) que ficou abaixo dos demais e apresentou diferença significativa ($p<0,05$) em comparação ao volume do grupo com infecção crônica e está abaixo do indicado pelo CBRA (2013) (volume: 0,8).

Tabela 1 – Espermograma de reprodutores caprinos pré-infecção e com infecção crônica para o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV), observados de julho a setembro de 2013, em Sobral, CE.

	Grupos	
	Pré-Infecção	Infecção crônica
Volume (mL)	$0,66 \pm 0,35\text{b}$	$1,10 \pm 0,37\text{a}$
Concentração ($\times 10^9$)	$3,93 \pm 0,86\text{a}$	$4,10 \pm 0,63\text{a}$
Motilidade (%)	$85,75 \pm 10,44\text{a}$	$86,25 \pm 6,15\text{a}$
Vigor (0-5)	$4,19 \pm 0,57\text{a}$	$4,22 \pm 0,56\text{a}$

Valores seguidos de letras iguais na mesma linha não apresentam diferença estatística pelo Teste de Turkey a 5% de significância.

No entanto, o valor ($0,66\text{mL} \pm 0,35$) evidenciado nesse estudo para o volume de sêmen do grupo de animais pré-infecção está dentro dos valores médios de referência (0,2-1,5 mL) considerados por Aisen (2008) e Salviano & Souza (2008) para caprinos, bem como os valores citados padrões (0,5 – 2,0 mL) por Castelo et al., (2008) e ainda similar e levemente acima aos resultados de Santos et al., (2006) que trabalhando com machos jovens sadios da raça Alpina e Saanen encontraram valores de volume espermático de 0,4 e 0,6 mL, respectivamente. Já Bispo et al., (2011) avaliando características *in vitro* e fertilidade do sêmen caprino deparou-se com volume de ejaculado de 0,7 mL, o qual é superior ao valor atribuído nessa pesquisa para o grupo pré-infecção, porém menor ao volume espermático do grupo com infecção crônica cujo valor foi semelhante aos achados por Dantas et al., (2011) e Oliveira et al., (2013).

Os resultados obtidos para os demais parâmetros avaliados como: concentração espermática ($3,84 \pm 1,10$ e $3,80 \pm 1,09$), motilidade ($83,53 \pm 14,93$ e $83,41 \pm 7,74$) e vigor ($4,02 \pm 0,61$ e $3,95 \pm 0,63$) dos reprodutores pré-infecção e de infecção crônica, para CAE, respectivamente, são coerentes com os evidenciados na literatura consultada para caprinos sadios (SANTOS et al., 2006; BEZERRA et al., 2009; DANTAS et al., 2011 e OLIVEIRA et al., 2013).

Após a realização da infecção viral dos animais, a comparação das características seminais entre os reprodutores com infecção recente e com infecção crônica para o CAEV (tabela 2), por meio do espermograma, denota-se a ausência de diferença significativa ($p > 0,05$) entre as variáveis, exceto o volume, que entre os grupos teve diferença significativa ($p < 0,05$), evidenciando situação similar ao período pré-infecção. Entretanto, diferentemente do que ocorreu naquele período, após a infecção com o CAEV, os parâmetros avaliados *in vitro* em ambos os grupos permaneceram em conformidade com os padrões do CBRA (2013), incluindo o volume no grupo com infecção recente para CAE, efeito esse que pode ter se dado em função de uma maior atividade das glândulas acessórias fruto de picos elevados de excitação dos animais pertencentes a esse grupo que no período pós-infecção se encontravam mais habituados à rotina de coleta de sêmen.

Tabela 2 – Espermograma de reprodutores caprinos jovens com infecção recente e adultos com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV), observados entre setembro de 2013 a março de 2014, em Sobral, CE.

	Grupos	
	Infecção recente	Infecção crônica
Volume (mL)	$0,84 \pm 0,45b$	$1,39 \pm 0,54a$
Concentração ($\times 10^9$)	$3,84 \pm 1,10a$	$3,80 \pm 1,09a$
Motilidade (%)	$83,53 \pm 14,93a$	$83,41 \pm 7,74a$
Vigor (0-5)	$4,02 \pm 0,61a$	$3,95 \pm 0,63a$

Valores seguidos de letras iguais na mesma linha não apresentam diferença estatística pelo Teste de Turkey a 5% de significância.

Para todas as características seminais avaliadas, tanto no período pré-infecção quanto pós-infecção, os reprodutores com infecção crônica tiveram os valores sempre similares, exceto o volume que sempre se manteve elevado, quando na comparação com o outro grupo experimental, estando em concordância com os padrões de normalidade e

resultados de outros trabalhos científicos (SANTOS et al., 2006; BEZERRA et al., 2009; DANTAS et al., 2011 e OLIVEIRA et al., 2013). O referido episódio demonstra que o CAEV não interferiu nos parâmetros espermáticos dos animais, bem como na funcionalidade testicular e epididimal, tanto na infecção crônica como na recente. No entanto, deve-se salientar que foi comprovada transmissão do CAEV pelo sêmen contaminado (SOUZA et al., 2013).

Quanto à avaliação da técnica de *Western Blotting* para a detecção do CAEV em amostras seminais os resultados obtidos comprovam a eficácia desta técnica, já sedimentada no soro sanguíneo como método de diagnóstico precoce da CAE e que no plasma seminal já foi relatado ter alta especificidade (100%) e boa sensibilidade (87,5%), respectivamente, em comparação com o WB utilizando soro sanguíneo (ANDRIOLI et al., 2012). No entanto, na detecção de anticorpos contra lentivirose no plasma seminal foi evidenciada a necessidade de maior quantidades desta amostra biológica (1:8) que a diluição relatada por Andrioli et al., (2012) que utilizaram 1:12,5, porém menor que a diluição de 1:2 usada por Ramírez et al., (2009). Em nosso ensaio, nas diluições de 1:12,5 e 1:25 de plasma seminal não foram detectadas a presença de anticorpos no plasma seminal.

Pinheiro et al., (2012) ao realizarem uma comparação de testes sorológicos no diagnóstico da CAE evidenciaram que até a diluição 1/1024 de soro sanguíneo o WB exibiu positividade, ao passo que no ELISA alcançou-se resultados positivos até a diluição 1/64 e no IDGA somente até a diluição 1/8. Com esses resultados os referidos autores constataram que o WB exerce a capacidade de detecção de anticorpos em uma diluição de até 128 e 16 vezes maior que o IDGA e o ELISA, respectivamente, quando na utilização de soro sanguíneo.

Na tabela 3, estão apresentados os resultados da técnica de *Western Blotting* (WB) no soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção crônica para o CAEV. Observou-se que dos seis animais que compuseram este grupo, apenas dois apresentaram resultados positivos no WB (AC1 e AC3). Os demais reprodutores permaneceram com resultados falso-negativos ao WB, durante as 22 coletas, representando um importante fator de risco na disseminação da CAE.

Apenas um animal do grupo com infecção crônica foi detectado anticorpos contra o CAEV através do WB em amostra de plasma seminal (AC3), sendo que estes

resultados positivos sempre coincidiam com a amostra de soro sanguíneo coletada no mesmo dia (Tab.3).

Tabela 3 - Resultados do WB de diferentes coletas de amostras semanais de soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).

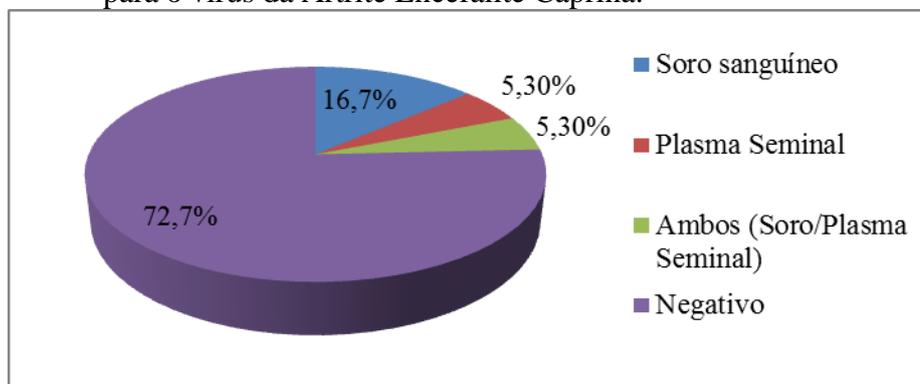
Coleta	AC1		AC2		AC3		AC4		AC5		A6	
	Soro	Sêmen										
1	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
5	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
6	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
7	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
8	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
9	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
10	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
11	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
12	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
13	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
14	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
19	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
20	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
21	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
22	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-

AC= Animais com infecção crônica

No caso dos resultados do WB na amostra de plasma seminal apenas um único animal do grupo com infecção crônica demonstrou a presença de anticorpos neste meio, e sempre que ocorria a detecção no plasma seminal desse animal a mesma coincidia com a detecção na sua amostra de soro sanguíneo, sugerindo que neste estado de infecção a detecção por WB em amostras de plasma seminal é passível de detecção somente quando há presença de altos títulos de anticorpos no soro sanguíneo.

Quando da avaliação porcentual de detecção de anticorpos nas amostras biológicas de reprodutores caprinos com infecção crônica para CAE por meio de WB (Gráfico 1) verifica-se que das 264 amostras submetidas à técnica, 16,7% delas detectou-se a presença de anticorpos anti-CAEV no soro sanguíneo. As amostras positivas do plasma seminal foram de apenas 10,6% e todas as amostras positivas de plasma seminal também apresentaram-se positivas no soro sanguíneo. No entanto, a ampla maioria apresentou resultado negativo (72,7%).

Gráfico 1 – Porcentagem de detecção de anticorpos em amostras de soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos adultos com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina.



Os valores percentuais foram calculados a partir de um total de 264 amostras.

Os resultados da técnica de WB aplicadas às amostras de soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção recente para CAE estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4 - Resultados do WB de diferentes coletas de amostras semanais de soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção recente para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).

Coleta	AR1		AR2		AR3		AR4		AR5		AR6	
	Soro	Sêmen										
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
4	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-
5	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-
6	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
7	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
8	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
9	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-
10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
11	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-
12	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-
13	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-
14	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
15	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-
16	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+
17	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+
18	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-
19	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
20	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+
21	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
22	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+

AR= Animais com infecção recente

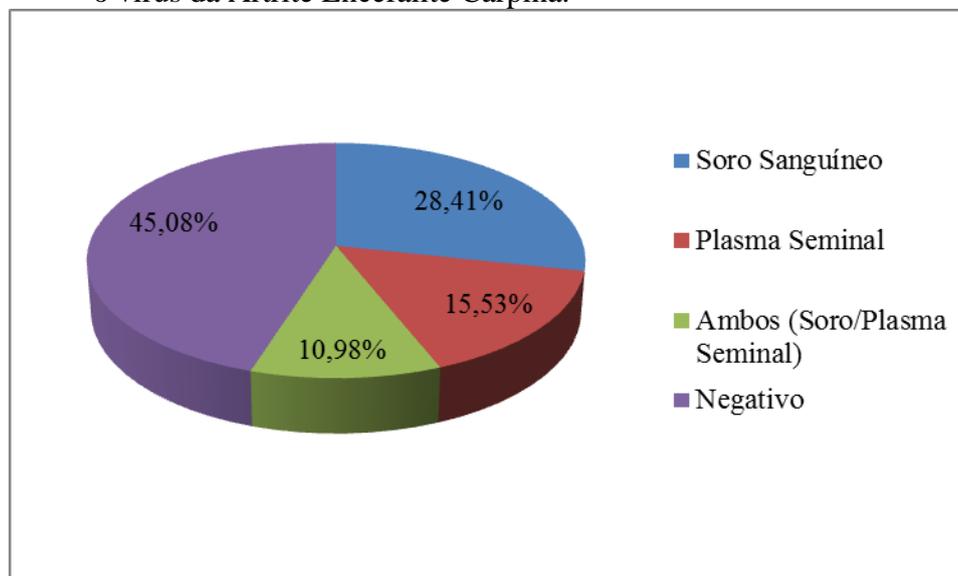
A soroconversão de todos os animais inoculados com o CAEV-Cork aconteceu após a terceira semana, porém não ocorreu um padrão na soroconversão (tabela 4). Situação semelhante foi relatada por Cruz (2009) ao efetuar por IDGA e PCR no sêmen.

Divergindo do que ocorreu com as amostras biológicas dos animais com infecção crônica, no caso dos reprodutores com infecção recente as amostras de soro sanguíneo e plasma seminal apresentaram resultados positivos pelo menos uma única vez pelo WB (tabela 4). Ainda na tabela 4, observa-se que a grande maioria das amostras de plasma seminal positivas coincidiu com a amostra de soro sanguíneo. No entanto, em três animais, em alguns momentos a detecção no plasma seminal não coincidiu com a detecção no soro sanguíneo, ao ponto de que em um desses três a detecção ocorreu unicamente no plasma seminal. Fato similar ocorreu nos estudos de Ramírez et al., (2009) onde 16% de um total de 94 amostras foram reativas ao WB apenas no fluido seminal, porém o valor relatado por esses autores é inferior ao percentual de 4,54% de um total de 264 amostras que representa a quantidade reativas ao WB apenas no plasma seminal. No nosso caso, esse episódio possivelmente tenha ocorrido por conta da produção diferenciada de imunoglobulinas, haja vista que no plasma seminal, preferencialmente, ocorre produção de imunoglobulinas do Tipo A (IgA), a qual é a principal imunoglobulina presente em secreções externas, enquanto que no soro sanguíneo de animais infectados por LVPR é caracterizado pela síntese das imunoglobulinas do tipo G (IgG), e em menor escala do tipo M (IgM) (TRUJILLO et al., 2004). Dessa forma, tendo essa produção diferenciada entre as amostras biológicas pode ser que em determinados momentos os níveis de IgA no plasma seminal tenham sido determinantes para que tenha ocorrido preferencialmente a detecção nesse tipo de amostra biológica. Com isso, permite inferir que em determinadas situações, amostras de plasma seminal seriam determinantes e de real importância na realização de um diagnóstico precoce de um animal portador da CAE.

Os valores percentuais encontrados na detecção de anticorpos nas amostras biológicas de reprodutores com infecção recente por WB (Gráfico 2) demonstram que no início da infecção há uma maior produção de anticorpos, já que em apenas 45,08% das amostras submetidas a técnica de WB deram resultado negativo. Segundo Adams et al., (1980) após soroconverterem o organismo dos animais proporciona um aumento nos títulos de anticorpos anti-CAEV até alcançarem um limiar, vindo posteriormente a

regredir até se estabilizarem, o que justifica o percentual reduzido de amostras nas quais a presença de anticorpos não foram detectadas.

Gráfico 2 – Porcentagem de detecção de anticorpos em amostras de soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos jovens com infecção recente para o vírus da Artrite Encefalite Carpina.



Os valores percentuais foram calculados a partir de um total de 264 amostras.

Além disso, verifica-se que a detecção de anticorpos anti-CAEV no soro sanguíneo apresenta um percentual maior (28,41%) que no plasma seminal (15,53%), na qual a detecção nesse tipo de amostra por essa técnica sorológica foi somente vista quando o animal tem em seu organismo altos títulos de anticorpos, o que coincide com o início da doença. Apresentando-se desse modo, como ferramenta passível de utilização na realização de um diagnóstico precoce e corroborando com os relatos de Oliveira et al., (2008) que menciona que o WB é uma técnica com amplo emprego no diagnóstico de lentivirose de pequenos ruminantes (LVPR). Além disso, o percentual de 28,41% referente às amostras reativas ao WB no soro sanguíneo, foi maior que a taxa de 23,08% de detecção de anticorpos anti-CAEV nesse mesmo tipo de amostra, relatado por Cavalcante et al., (2013) ao trabalharem com fêmeas 24 meses após a infecção pelo CAEV, essa situação permite inferir que a eficácia do teste aumenta quando as amostras a ele submetido sejam oriundas de animais com menor período de infecção, já que haverá maiores níveis de anticorpos circulando pelo organismo.

Esse indício é fortemente comprovado ao efetuarmos a comparação de uso da técnica sobre os dois tipos de amostras biológicas dos grupos com infecção crônica e

recente para CAE (tabela 5) em que se observa que a técnica é mais efetiva quando sujeita a amostras oriundas de animais onde a enfermidade está na sua fase inicial (infecção recente), vindo a apresentar percentuais de detecção elevados tanto no soro sanguíneo quanto no plasma seminal (56,82% e 31,06%, respectivamente). Quando a técnica é realizada com amostras de reprodutores com infecção crônica as chances de detecção são menores, pois os mesmos apresentam resultados positivos inferiores em ambas às amostras biológicas, sêmen e sangue, em relação à àquelas da infecção recente, conseqüentemente limitando o diagnóstico.

Mas, independente do tipo de infecção, é notório que o WB no soro sanguíneo é mais eficaz do que em amostras de plasma seminal na detecção de anticorpos anti-CAEV, desta forma a escolha da amostra vai influenciar, ainda mais, na ocorrência de falso-negativos ao teste.

Tabela 5 – Comparação da técnica de *Western Blotting* no soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção recente e com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).

		Negativo (%)	Positivo (%)
Infecção crônica	Soro Sanguíneo	72,73	27,27
	Plasma Seminal	89,40	10,60
	Total de amostras	81,06	18,93
Infecção recente	Soro Sanguíneo	43,18	56,82
	Plasma Seminal	68,94	31,06
	Total de amostras	56,06	43,94

Analisando a quantidade de amostras reagentes (soro sanguíneo e plasma seminal) dos animais com infecção recente (tabela 6), observamos que houve diferença estatística ($p > 0,05$), sendo que a maior média de amostras reagentes foi constatada no soro (12,5%). Por outro lado, a diferença observada entre as amostras do grupo com infecção crônica não foi significativa. Na avaliação do mesmo tipo de amostra, entre grupos, não houve diferença significativa, embora os animais do grupo com infecção recente apresentaram maior número de amostras positivas para os dois tipos de amostras (tabela 6).

Tabela 6 – Quantidade média de amostras onde foram detectados anticorpos anti-CAEV pela técnica de *Western Blotting* em amostras de soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção recente e com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina.

		Quantidade de Amostras Reagentes	
Grupos	Infecção crônica	Soro sanguíneo	6,0 ± 9,6 A*a**
		Plasma seminal	2,3 ± 5,7 A a
	Infecção recente	Soro sanguíneo	12,5 ± 6,24 A a
		Plasma seminal	6,83 ± 2,13 B a

* Valores seguidos de letras maiúsculas iguais entre os diferentes tipos de amostras biológicas, no mesmo grupo, não apresentam diferença estatística pelo Teste de T de Student a 5% de significância.

** Valores seguidos de letras minúsculas iguais entre os mesmos tipos de amostra biológica, entre os grupos, não apresentam diferença estatística pelo Teste de T de Student a 5% de significância.

Ao efetuarmos a correlação entre as amostras biológicas de ambos os grupos conforme a detecção de anticorpos anti-CAEV por WB (Tabela 7), nota-se a ocorrência de correlação moderada a alta entre as amostras biológicas nos dois grupos experimentais.

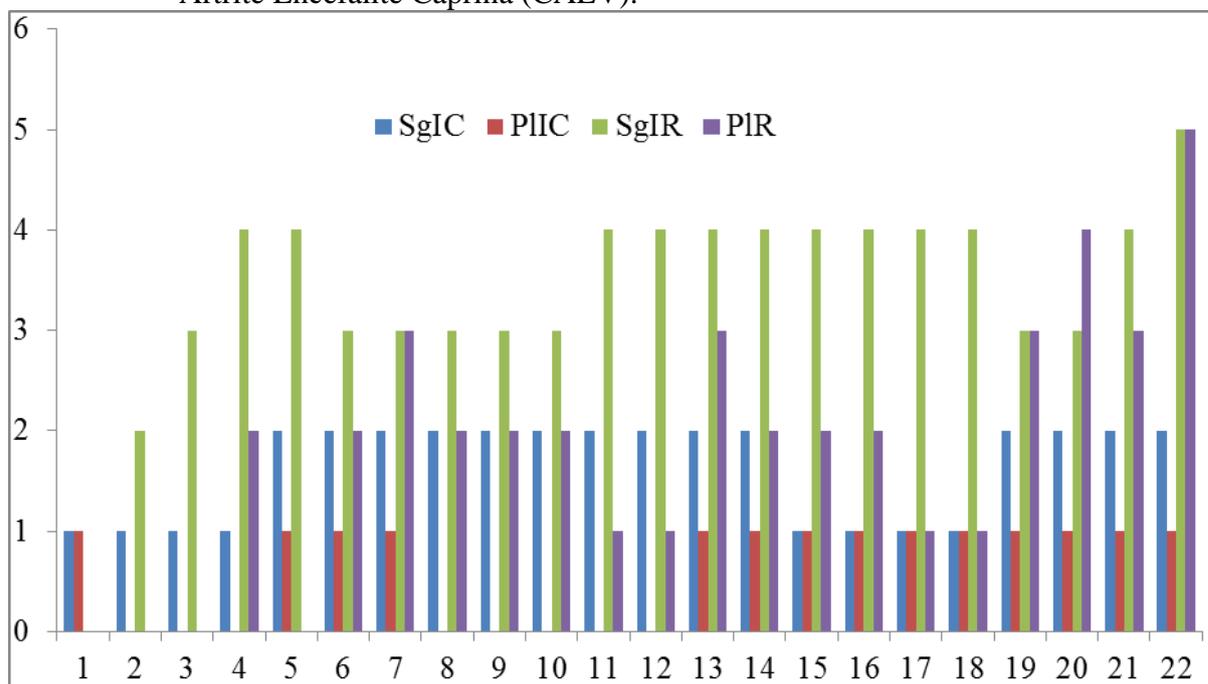
Tabela 7 – Correlação entre a detecção de anticorpos anti-CAEV via *Western Blotting* das amostras biológicas do grupo de reprodutores com infecção recente e adultos com infecção crônica para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).

Correlação	SgIC	SgIR	PIIC	PIIR
SgIC	--			
SgIR	0,0179	--		
PIIC	0,5870	0,1222	--	
PIIR	0,5062	0,3597	0,4020	--

SgIC = soro sanguíneo da infecção crônica; SgIR = soro sanguíneo da infecção recente; PIIC = plasma seminal da infecção crônica; PIIR = plasma seminal da infecção recente

No gráfico 3 evidenciamos as quantidades de amostras positivas pelo WB, ao longo das coletas, nos grupos com infecção recente e crônica para CAE. Observamos que não houve uma estabilidade de resultados positivos na detecção de anticorpos anti-CAEV no plasma seminal ao longo de todo período experimental, talvez devido a flutuações de resposta imunogênica por parte do organismo animal. Nos animais com infecção recente, deve-se levar em consideração a janela imunológica, ou seja, período entre a infecção e a soroconversão. Além disso, nota-se neste grupo que a detecção por WB de anticorpos anti-CAEV inicia mais tardiamente no plasma seminal frente ao soro sanguíneo.

Gráfico 3 – Quantidade de amostras em cada coleta detectadas anticorpos anti-CAEV via *Western Blotting* em amostras de soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção crônica e recente para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).



SgIC = soro sanguíneo da infecção crônica; SgIR = soro sanguíneo da infecção recente; PIIC = plasma seminal da infecção crônica; PIIR = plasma seminal da infecção recente

Verifica-se também no Gráfico 3 que no grupo com infecção crônica, houve relativamente um padrão na ocorrência de resultados positivos nos dois tipos de amostras biológicas.

A seguir na tabela 8 está demonstrada a comparação dos resultados do WB nos dois diferentes tipos de amostras biológicas de ambos os grupos experimentais, bem como os valores estimados de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, precisão e índice kappa.

Tabela 8- Comparação dos resultados do WB no soro sanguíneo e plasma seminal de reprodutores caprinos com infecção crônica e recente para o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).

WB		WB Soro Sanguíneo		Total
		Positivo	Negativo	
Plasma Seminal	Positivo	43	12	55
	Negativo	68	141	209
	Total	111	153	264

Sensibilidade: 38,73%; Especificidade: 92,15%; Valor preditivo positivo: 42,04%; Valor preditivo negativo: 20,93%; Precisão: 69,69%; Índice kappa= 0,33.

De modo geral, denota-se que o WB no plasma seminal teve uma sensibilidade de 38,73% em comparação com o WB no soro sanguíneo, divergindo do resultado relatado por Andrioli et al., (2012) que foi de 87,5%, porém esse baixo valor se justifica devido dentre as amostras submetidas ao teste estarem contido amostras de animais com infecção crônica onde a resposta imune é menor, e conseqüentemente dificulta a detecção, até mesmo por uma técnica eficaz como WB. Aliado a esse episódio, também deve ser levado em consideração que conforme maior seja o período de infecção, o vírus apresenta uma tendência a ficar quiescente, pois segundo Cavalcante et al., (2013) isso possivelmente venha a ocorrer devido a não integração do DNA pró-viral ou esse venha a estar integrado mas não ativado. Assim, levando isso como base, observa-se que o valor de sensibilidade do WB em amostras de fluído seminal encontrado nesse estudo, é relativamente satisfatório na detecção de anticorpos anti-CAEV nesse tipo de amostra biológica, uma vez que índices mais elevados irá depender do tempo de infecção do animal e de sua carga viral.

Nessa concepção, o teste passa a ser uma alternativa interessante na realização do diagnóstico da enfermidade, pois apesar de baixo valor de sensibilidade quando comparado a valores desse parâmetro através dessa técnica unicamente em amostras de soro sanguíneo, o WB mesmo em amostras de fluído seminal apresentou uma alta especificidade de 92,15%, valor esse próximo ao de 100% visto por Andrioli et al., (2012), indicando que o mesmo independente do tipo de amostra biológica, quer seja soro sanguíneo ou plasma seminal, identifica corretamente as amostras advindas de animais não portadores da doença. Além disso, verifica-se ainda um percentual de precisão de 69,69% dos resultados do WB no fluído seminal em comparação ao soro sanguíneo, o qual é um percentual satisfatório haja vista justamente a inclusão não só de amostras de animais com infecção recente, onde teoricamente esse valor tende ser mais elevado, mas também de amostras de animais cronicamente infectados para o CAEV, em que a intermitência do vírus leva a uma menor precisão. Com relação à classificação do índice Kappa da análise realizada, a mesma foi considerada razoável segundo Thrusfield (1995), mas inferior ao de 0,87 mencionado por Andrioli et al., (2012).

CONCLUSÕES

O CAEV não interfere nos parâmetros seminais de reprodutores com infecção recente e crônica.

Uma carga de anticorpos anti-CAEV elevada é uma condição para que ocorra sua detecção no fluido seminal pelo WB, cuja eficácia é maior em animais com infecção recente, consolidando a importância do diagnóstico precoce do CAEV.

Na comparação entre os resultados do WB em amostras de soro sanguíneo e plasma seminal, verifica-se maior frequência na detecção de anticorpos anti-CAEV no soro sanguíneo independentemente se a infecção é recente ou crônica. No fluido seminal particularmente, denota-se que o WB apresenta uma baixa sensibilidade, porém alta especificidade.

A utilização do WB no plasma seminal representa uma alternativa de diagnóstico da CAE, entretanto apenas sua utilização não é o suficiente, devendo-se assim conciliar esta técnica com outros métodos laboratoriais na detecção da CAE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, D.A.; BRITO, R.L.L.; RODRIGUES, A.S.; et al. Padronização da técnica de Western Blot para a detecção de anticorpos contra o vírus da CAE no plasma seminal de machos caprinos. In: XIII Encontro de Iniciação Científica, 2011. Sobral. **Anais... Sobral**, 2011(Resumo).
- ADAMS, D.S.; CRAWFORD, T.B.; BANKS, K.L.; et al. Immune responses of goats persistently infected with caprine arthritis-encephalitis virus. **Infection and Immunity**, v. 28, n. 2, p. 421-7, 1980.
- ALI AL AHMAD, M.Z.; FIENI, F.; PELLERIN, J.L.; et al. Detection of viral genomes of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in semen and in genital tract tissues of male goat. **Theriogenology**, v.69, p.473-480, 2008.
- ALVES, L.A.O.; TEIXEIRA, M.F.S.; PINHEIRO, A.A.; et al. Produção de antígeno e separação da proteína p28 por microfiltração seriada para sorodiagnóstico da artrite encefalite caprina por ensaio imunoenzimático. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.4, p.935-942, 2012.
- ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G.; PINHEIRO, R.R.; et al. Detecção do DNA próviral do lentivírus caprino em sêmen de bodes naturalmente infectados. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.420-421, 1999.
- ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G.; MARTINS, A.S.; et al. Fatores de risco na transmissão do lentivírus caprino pelo sêmen. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 8, p. 1313-1319, 2006.
- ANDRIOLI, A.; ABREU, D.A.; PINHEIRO, R.R.; et al. **Técnica de Western Blot para detecção de anticorpos antivírus da Artrite Encefalite Caprina no plasma seminal**. Sobra: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2012. 6p. (EMBRAPA – CNPCO, Comunicado Técnico, 130).
- AISEN, E.G. **Reprodução Ovina e Caprina**. 1ª Ed. São Paulo: Ed. MedVet. 2008.
- BEZERRA, F.Q.G.; FREITAS NETO, L.M.; AGUIAR FILHO, C.R.; et al. Avaliação dos parâmetros seminais e espermáticos de caprinos jovens da raça Boer nascidos na estação chuvosa e seca. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1256-1262, 2009.
- BIRGEL JÚNIOR, E. H.; CESTARI, V.; SAMPAIO, R. M.; et al. Influência da infecção pelo vírus da Artrite-Encefalite Caprina nas características físico-químicas e celulares do leite de caprinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 3, p. 199 - 206, 2007.
- BISPO, C.A.S.; PUGLIESI, G.; PALHÃO, M.P.; et al. Características *in vitro* e fertilidade do sêmen caprino armazenado a 5°C por 24 horas utilizando duas concentrações de gema de ovo no diluente. **Ciência Animal Brasileira**, v.12, n.4, p. 653 – 660, 2011.

- CASTELO, T.S.; FROTA, T.R.; SILVA, A.R. Consideração sobre a criopreservação de sêmen de caprinos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.3, p.67-75, 2008.
- CAVALCANTE, F.R.A; ANDRIOLI, A.; PINHEIRO, R.R.; et al. Detecção do vírus da Artrite Encefalite Caprina por nested PCR e nested RT-PCR em ovócitos e fluido uterino. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.80, n.4, p. 381-386, 2013.
- CBRA – COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2. ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013. 49p.
- CRUZ, J.C.M. **Monitoramento sorológico e da presença do DNA pró-viral do lentivírus caprino (CAEV) no sangue e sêmen de reprodutores infectados**. 2009. 35 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.
- DANTAS, V.M.; SOUZA, M.I.L.; MONREAL, A.C.D.; et al. Variações anuais nas características seminais, perímetro escrotal e testosterona plasmática em bodes Saanen no Mato Grosso do Sul, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v.5, n.1, p.9-19, 2011.
- DIFFAY, B. C.; MCKENZIE, D.; WOLF, C.; et al. Abordagem e exame de ovinos e caprinos. In: **PUGH, D.G. (Ed.). Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. Cap. 1, p. 1-19.
- GREGORY, L.; LARA, M.C.C.S.H.; HASEGAWA, M.Y.; et al. Detecção do vírus da artrite encefalite caprina no sêmen através das técnicas de PCR e Nested-PCR. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 78, n. 4, p.599-603, 2011.
- GUEDES, M. I. M. C. **Infecção Experimental pelo vírus da artrite encefalite caprina em cabritos de nove a vinte e sete dias de idade**. 1999. 59f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária - Área de Patologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- KURIEN, B.T.; SCOWELD, H.R. Western Blotting. **Methods**, v. 38, p. 283-293, 2006.
- LARA, M.C.C.S.H.; VILLALOBOS, E.M.C.; CUNHA, E.M.S.; et al. Inquérito sorológico de lentivirose de pequenos ruminantes (Maedi-Visna e Artrite Encefalite Caprina) no estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 50, n. 1, p. 18-25, 2013.
- MIES FILHO, A. Novo modelo de vagina artificial para ovinos. **Revista da Faculdade de Agronomia do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v.5, p.187-193, 1962.
- MIGUEL, M.P.; MENEZES, L.B.; ARAUJO, E.G. Western Blotting: A técnica e aplicações na pesquisa e rotina diagnóstica em medicina veterinária. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 8, n. 15, p. 1704, 2012.

- MILLER, A. *Meteorology*. 2^a ed. Columbia, Ohio: Charles E. Merrill Publishing Company, 1971. 154p.
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. Manual of standards diagnostic tests and vaccines. World Organization for Animal Health, Paris: OIE, 2004. p.1178, 5.ed.
- OLIVEIRA, M.M.M.; MELO, M.A.; ANDRADE, P.P.; et al. Western Blot para o diagnóstico das infecções pelos lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos: um método simples para a produção de antígeno. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 75, n. 3, p. 263-270, 2008.
- OLIVEIRA, I.R.S.; ALVES, H.M.; CASTELO, T.S.; et al. Correlações entre o teste hiposmótico e avaliação clássica do sêmen de caprinos. **Ciência Animal Brasileira**, v.14, n.2, p. 216-221, 2013.
- PAULA, N.R.O. **Parâmetros clínicos, hematológicos, sorológicos e reprodutivos em reprodutores natural e experimentalmente infectados com CAEV**. 2008, 193f. Tese (Doutorada em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2008.
- PETERSON, K.; BRINKHOF, J.; HOUWERS, D.J.; et al. Presence of pro-lentiviral DNA in male sexual organs and ejaculates of small ruminants. **Theriogenology**, v.69, p.433-442, 2008.
- PETERHANS, E.; GREENLAND, T.; BADIOLA, J. et al. Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. **Veterinary Research**, v.35, p.257-274, 2004.
- PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F. Prevalência da infecção pelo Vírus da Artrite-Encefalite Caprina no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 449- 454, 2001.
- PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; TORRES, A.M.C.; et al. Custo dos antígenos a dos testes de diagnóstico de lentivírus de pequenos ruminantes. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 28, p.110-113, 2006.
- PINHEIRO, R.R.; ANDRIOLI, A.; SIDER, L.H.; et al. **Lentivirose em Pequenos Ruminantes: Principais Métodos de Diagnóstico**. Sobral: EMBRAPA Caprinos e Ovinos, 2012. 40p. (EMBRAPA – Caprinos e Ovinos. Documentos, 107).
- RAMÍREZ, H.; SAN ROMÁN, B.; GLARIA, I.; et al. Antibody-based diagnosis of small ruminant lentivirus infection in seminal fluid. **Theriogenology**, n. 72, p.1085–1096, 2009.
- REED, L.J.; MUENCH, H. A simple method of estimating fifty percent end points. **American Journal of Hygiene**, v. 27, n. 3, p. 493-497, 1938.
- RODRIGUES, A.S.; BRITO, R.L.L.; SANTOS, V.W.S.; et al. Comparação de dois testes sorológicos na evolução da infecção natural de caprinos leiteiros com o vírus

- da Artrite Encefalite Caprina – dados preliminares. In: 4º Simpósio Internacional Sobre Caprinos e Ovinos de Corte. João Pessoa: 2009. **Anais...**João Pessoa, 2009.
- SALVIANO, M.B.; SOUZA, J.A.T. Avaliação andrológica e tecnologia do sêmen caprino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, n. 3, p. 159-167, 2008.
- SANTOS, A.D.F.; TORRES, C.A.A.; FONSECA, J.F.; et al. Parâmetros reprodutivos de bodes submetidos ao manejo de fotoperíodo artificial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.1926-1933, 2006.
- SOUSA, A.L.M. **Avaliação da sensibilidade de testes de Imunodiagnóstico para detecção de anticorpos contra o vírus da Artrite Encefalite Caprina**. 2013, 21f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) – Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, 2013.
- SOUZA, K.C. **Artrite-encefalite caprina: Infecção experimental via inseminação artificial e acompanhamento clínico e sorológico**. 2010, 100 f. Dissertação (Pós-Graduação em Zootecnia) – Universidade Estadual Vale do Acaraú – Sobral, 2010.
- SOUZA, K.C.; PINHEIRO, R.R.; SANTOS, D.O.; et al. Transmission of the caprine arthritis-encephalitis vírus through artificial insemination. **Small Ruminant Research**, v.109, p.193-198, 2013.
- THRUSFIELD, M.V. *Veterinary Epidemiology*. 2.ed. Oxford: Blackwell Science, 1995. 479p.
- TORRES, J.A.; CAMPOS, G.S.; FREITAS, M.M.; et al. Produção de antígeno viral para o sorodiagnóstico da artrite-encefalite caprina utilizando um teste imunoenzimático (ELISA). **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.8, n.2, p.107-114, 2009.
- TRUJILLO, J.D.; HÖTZEL, K.J.; SNEKVIK, K.R.; CHEEVERS, W.P. Antibody response to the surface envelope of caprine arthritis-encephalitis lentivirus: disease status is predicted by SU antibody isotype. **Virology**, v. 325, p. 129-136, 2004.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os problemas acarretados pela CAE nos estabelecimentos produtivos são rotineiramente relatados na literatura, sendo que na reprodução os prejuízos são representados por limitação dos reprodutores acometidos com a enfermidade, o que consequentemente causa prejuízo ao produtor, sobretudo quando se trata de animais de alto potencial genético. Apesar dos reprodutores não ter seu comportamento reprodutivo alterado pela doença, e se encontrar ainda adaptado às situações do semiárido nordestino se evidencia um enorme problema para o desenvolvimento da caprinocultura.

Contudo, na inexistência de vacinas, um manejo sanitário adequado aliado ao um diagnóstico precoce é uma ferramenta essencial para o controle da CAE, e nesse caso deve-se optar por técnicas que combinem sensibilidade e especificidade, equilibrando essas duas características de maneira satisfatória, como é o caso do *Western Blotting*, a qual detecta os anticorpos anti-CAEV também no plasma seminal.